41B212+

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

DR. W. HEUBNER
EM. PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
HEIDELBERG

DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

224. BAND, 1. HEFT

MIT 33 TEXTABBILDUNGEN, DAVON 8 FARBIGEN

ABGESCHLOSSEN AM 26. NOVEMBER 1954

CAT. LOGUE
DEC 29 1955
L. R. V.

BOSTON
FEB 2 1955
MEDICAL LIBRARY

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1955

Arch. exper. Path. u. Pharmakol.

Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie

Begründet 1873 von *B. Naunyn, O. Schmiedeberg, E. Klebs.* Unter Mitwirkung von Fachgenossen herausgegeben von *L. Krehl, W. Straub, W. Heubner* u. a., ab Band 280/2 unter Mitwirkung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft.

Band 2—158 (1931) Leipzig, F. C. W. Vogel, Band 159—198 (1941) Berlin, F. C. W. Vogel. Ab Band 199 Berlin, Springer.

Die Zeitschrift erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden zusammengestellt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 82.—.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Manuskripte sind zu senden an:

Prof. Dr. W. HEUBNER, Heidelberg, Ladenburger Str. 69,

Prof. Dr. L. LENDLE, Göttingen, Geiststraße 9, Pharmakologisches Institut der Universität,

Prof. Dr. L. HEILMEYER, Freiburg i. Br., Hugstetterstr. 55, Medizinische Universitätsklinik,

oder an den

Springer-Verlag

Heidelberg Neuenheimer Landstr. 24, Fernspr. 2440 — **Berlin W 35** Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N. W. 1

---

224. Band **Inhaltsverzeichnis.** 1. Heft

Seite

Eger, W., Über den Einfluß subletaler Butazolidindosen auf das innersekretorische System und die inneren Organe weißer Ratten. Mit 5 Textabbildungen 1

Storz, H., und **A. Voelkel,** Über den polarisatorischen Widerstand der menschlichen Haut nach Elektrolytbelastung. Mit 3 Textabbildungen . 13

Dörner, J., und **H. J. Kuschke,** Zur Frage einer pharmakodynamischen Wirkung der aus Crataegus gewonnenen Triterpensäuren (Crataegussäuren). Mit 4 Textabbildungen 24

Begović, S., und **E. Maglajlić,** Der Acetylcholingehalt in der Kuhmilch. Mit 1 Textabbildung 44

Schaumann, W., Einfluß von Sympathicolytica auf die Kälteresistenz. Mit 1 Textabbildung 48

Hardegg, W., R. Dohrmann und **D. Bechinger,** Weitere Untersuchungen über die Kinetik der Cholinesterasen und ihre Beeinflussung durch Atropin. Mit 2 Textabbildungen 55

Holt, C. v., L. v. Holt, B. Kröner und **J. Kühnau,** Chemische Ausschaltung der A-Zellen der LANGERHANSschen Inseln. Mit 6 Textabbildungen, davon 4 farbigen 66

Holt, C. v., L. v. Holt, B. Kröner und **J. Kühnau,** Über die Wirkung der chemischen Ausschaltung der A-Zellen der LANGERHANSschen Inseln auf den Alloxandiabetes. Mit 11 Textabbildungen, davon 4 farbigen 78

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 1—12 (1955).

Aus dem pathologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. F. Feyrter).

Über den Einfluß subletaler Butazolidindosen auf das innersekretorische System und die inneren Organe weißer Ratten.

Von
W. Eger.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juni 1954.)

Die therapeutischen Erfolge beim Rheumatismus rücken das Butazolidin an die Seite des Cortisons und werfen die Frage auf, wie weit ein direkter histiotroper Effekt analog dem Cortison vorhanden ist oder ob sich ein solcher etwa über die Nebenniere durch erhöhte Produktion oder verzögerten Abbau von Cortison ergibt. Damit wird überhaupt das Problem aufgerollt, welche Wirkung das Butazolidin auf die innersekretorischen Organe ausübt[1].

Die Beobachtung einer Wasserretention nach Butazolidin-Anwendung hatte zur Folge, daß die Wasser- und Kochsalzausscheidung der Niere unter Einwirkung des Stoffes vielfach untersucht wurde. Ob dabei histologische Veränderungen der Nieren auftreten, ist nicht bekannt. Weiterhin werden Leberschädigungen vermutet, sind aber bisher nicht exakt nachgewiesen.

Die folgenden Untersuchungen sollten sich zu einer weiteren Klärung der erwähnten Probleme vor allem auf eine histologische Auswertungsmethode stützen. Nun ist bekannt, daß eine akute Einwirkung von Substanzen auch in toxischer Dosis selten zu morphologisch faßbaren Veränderungen führt und daß man nur bei chronischen Vergiftungen mit Ergebnissen rechnen kann, die auch für den Morphologen erkennbar sind. Dafür hat er aber den Vorteil, aus der Änderung der zelligen Struktur nähere Angaben über den Angriffsort des Stoffes zu machen. Unter diesen Voraussetzungen wurden auch die folgenden Untersuchungen als chronische Vergiftungen durchgeführt.

Chronischer Vergiftungsversuch zur Frage einer Gewöhnung an Butazolidin.

Wir benutzten für unsere Versuche nur Ratten. Für diese Tiere hatten Hazleton und Mitarb.[8] als letale Dosis 213 mg/kg i. p. angegeben. In wenigen orientierenden Vorversuchen kamen wir nicht ganz an diese Dosis heran.

Im Hauptversuch gingen wir so vor, daß 10 weibliche Wistar-Ratten von 200—225 g täglich einmal i. p. gespritzt wurden. Wir begannen mit 20 mg in 1 cm^3 pro Tier = 100 mg/kg und steigerten zunächst täglich um 2 mg, bis das 1. Tier am 6. Tage bei einer Dosis von 171 mg/kg einging. Der Gewichtsverlust des Tieres betrug bis dahin 25 g. Nun wurde die Dosis in größeren Zeitabständen höher gesetzt. Die nächste Ratte starb am 9. Tage unter Krämpfen mit einer LD von 184 mg/kg. Bei dieser Dosierung traten auch bei anderen Tieren Krämpfe auf, die aber überstanden wurden. Nach einer weiteren Erhöhung um 2 mg pro Tier beobachteten wir nun fast an allen Ratten Krämpfe, die nach der Injektion auftraten, zunächst überstanden wurden und sich täglich bis zum Exitus wiederholten. Eine weitere Steigerung der Dosis war nur bei 2 Tieren möglich. Vgl. Tab. 1.

Tabelle 1.

Tier Nr.	Anfangsgewicht in g	Endgewicht in g	Versuchsdauer in Tagen	Dauer der Krampfdosis in Tagen	LD in mg/kg am Versuchsende
RB 7	200	175	5	0	171
RB 2	200	185	8	1	184
RB 4	210	190	11	5	189
RB 12	220	170	18	7	211
RB 13	210	175	21	12	205
RB 14	215	200	22	10	180
RB 8	200	180	22	12	199
RB 35	200	190	29	14	189
RB 6	215	195	22	4	195
RB 37	225	205	22	5	191

Man kann folgendes ablesen:

Die LD liegt im Durchschnitt um 191 mg/kg und ist etwas niedriger als nach den Angaben von Hazleton und Mitarb., was sich noch in weiteren Versuchen bestätigt. Die Tiere verlieren trotz der anhaltenden hohen Vergiftungsdosis wenig an Gewicht. Es sinkt im Durchschnitt von 210 auf 186 g.

Die bald nach der Injektion subletaler Dosen auftretenden schweren krampfartigen Zuckungen gingen mit einer deutlichen Cyanose der Ohren, der Nase und der Zehen einher. Der Zustand dauerte etwa 20 min und endete darüber hinaus meist mit dem Tode. Dieselbe Beobachtung teilten Hazleton und Mitarb. mit. Eine geringe Steigerung der Krampfdosis führte zum baldigen Exitus. Wir konnten den größten Teil der Tiere über 12 Tage auf der Krampfdosis halten. Durch allmähliche geringe Gewichtsabnahme kamen die Tiere auch ohne Erhöhung der Injektion an die LD heran. Ein Tier setzten wir 6 Tage aus und gaben dann noch einmal die Dosis, die es am Ende des Versuches erhalten hatte. Es ging sofort unter Krämpfen ein.

Der Versuchsverlauf zeigt wohl ohne nähere Erklärungen, daß *eine Gewöhnung des Organismus an Butazolidin nicht oder nur in geringem Maße eintritt*, eine merkliche Steigerung der subletalen Krampfdosis durch wiederholte Injektion also nicht möglich ist.

Das Ergebnis bestätigte sich auch weiterhin bei oraler Gabe von Butazolidin. 5 Wistar-Ratten von 170—225 g tranken nach der Vorbeobachtung etwa 10 cm³ Wasser täglich aus einer Saugflasche. Dem Wasser wurde zuerst soviel Butazolidin zugesetzt, daß jedes Tier mit 10 cm³ täglich 20 mg Butazolidin aufnahm. Diese Menge wurde 2tägig um 2 mg gesteigert und erreichte nach etwa 52 Versuchstagen den 3fachen Wert, also 60 mg. Das entspricht einer Menge von 333 mg/kg bei einem Durchschnittsgewicht von etwa 180 g, also erheblich mehr als der akuten LD.

2 Tiere gingen unter rapidem Gewichtsverlust von fast 40% nach 52 Tagen Versuchsdauer ein. Nun setzten wir die Fütterung 8 Tage aus. Die 3 übrigen Tiere erholten sich, nahmen an Gewicht zu und erhielten nun Trinkwasser mit der zuletzt erreichten Menge Butazolidin, nahmen allerdings nicht so viel auf (etwa 42 mg täglich, was einer Menge von 233 mg/kg entspricht). Das Körpergewicht fiel wiederum rasch ab. Die Tiere starben nach 4 Tagen. Auch aus diesem Versuch kann man demnach keine Gewöhnung ablesen. In weiteren Fütterungsversuchen konnten wir dieselbe Butazolidinaufnahme erreichen. Die Tiere verloren aber rasch an Gewicht und gingen ein, sobald die eben angegebenen Tagesmengen überschritten wurden.

Bei der Untersuchung der Tiere, die nach der Injektion im Krampfzustand eingingen, fiel makroskopisch die Veränderung der Leber auf. Sie war mit der Umgebung verwachsen, erheblich vergrößert, blaurot und kugelig aufgetrieben, zeigte also das Bild einer hochgradigen Stauung, was sich histologisch bestätigte. Parenchymschäden waren nicht nachzuweisen, Ursachen der Stauungsleber auch bei der histologischen Untersuchung der anderen Organe nicht zu finden. Die Perihepatitis mit Verwachsungen führten wir auf die i. p. Injektionen des Butazolidin zurück; allerdings wies das Peritoneum an anderer Stelle keine ähnliche Reaktion auf.

Auch nach oralen Gaben fanden wir keine Leberveränderung gröberer Art. Mitunter war das Reticuloendothel geschwollen, wobei die Kupffer-schen Sternzellen gelegentlich ein feinkörniges, nichteisenhaltiges Pigment enthielten, so daß wir uns fragten, ob Butazolidin in unlöslicher Form im Reticuloendothel gespeichert wird. Allerdings waren ähnliche Speicherungsvorgänge in der Milz nicht zu beobachten, gelegentlich auch hier eine gewisse Reaktion der Reticulumzellen mit einer Wucherung vorhanden. Man könnte daraus eine Aktivierung des Reticuloendothels durch Butazolidin folgern. Doch ist diese Veränderung nicht regelmäßig oder gehäuft festzustellen.

Wegen der Krampfzustände untersuchten wir auch das Gehirn, ohne Veränderungen nachzuweisen.

Das Verhalten innersekretorischer Drüsen bei chronischer Butazolidin-Vergiftung.

Hierbei zeichnete sich die Schilddrüse durch besondere Veränderungen aus. Sie zeigte eine beträchtliche Aktivierung. Dieses Ergebnis veranlaßte uns, 2 weitere Versuchsreihen anzusetzen, wobei wir dem Verhalten der Schilddrüse unsere besondere Aufmerksamkeit zuwandten.

Die 1. Versuchsreihe sollte klären, *nach wieviel Injektionen subletaler Dosen man eine Aktivierung der Schilddrüse feststellen* kann, und die 2. Versuchsreihe nach chronischer Verfütterung die *Schilddrüsengewichte* erfassen.

Zum ersten Versuch benutzten wir 30 Tiere von etwa je 100 g eines Inzuchtstammes des Tierphysiologischen Institutes Göttingen. Um eine intensive Wirkung zu erreichen, dosierten wir hoch, blieben mit 160 mg/kg s. c. noch beträchtlich unter der LD des ersten Versuches.

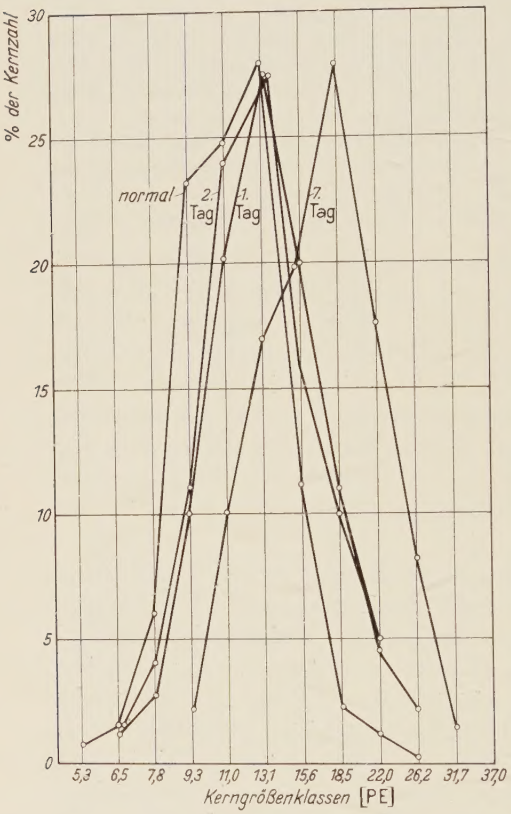


Abb. 1. Kernverteilungskurven der Schilddrüsen von je 2 Ratten, 1, 2 und 7 Tage nach täglicher Injektion subletaler Dosen von Butazolidin gegenüber 2 Normaltieren. Schon am 1. Tag Vergrößerung der Kerne mit signifikanter Rechtsverschiebung der Kurve als Zeichen gesteigerter Aktivität. Nach 7 Tagen stärkste Rechtsverschiebung. *PE* Planimetereinheit = 1,3 μ^2.

Nach der 1. Injektion gingen 4 Tiere sofort ein. Nach der 2. Injektion, die wir 8 Std später ausführten, starben 8 Tiere und nach einer weiteren Injektion am nächsten Tage nochmals 4 Tiere. Das Absinken der letalen Dosis führten wir auf die Verwendung von jungen Tieren zurück. Wir setzten deshalb die Dosis auf 100 mg/kg herunter und konnten damit die Ratten zweimal täglich behandeln und sie über die beabsichtigte Versuchszeit von 8 Tagen bringen. Der Versuch wurde so geführt, daß täglich 2 Tiere getötet wurden und im ganzen 16 Tiere und 2 unbehandelte Kontrollen zur Auswertung kamen.

Da in so kurzer Zeit eine eindeutige Gewichtszunahme der Schilddrüse als Ausdruck einer Aktivitätssteigerung nicht zu erwarten war, prüften wir diese Frage durch Messung der Kerngröße und Epithelhöhe. Von 2 Tieren wurden je 200 Kerne der Schilddrüse, die wir in der üblichen Weise histologisch aufarbeiteten, 2300fach vergrößert, der Umfang auf Papier ausgezeichnet und die Fläche planimetrisch bestimmt, die Epithelhöhe in derselben Vergrößerung etwa 15mal mit dem Zentimetermaß gemessen. Die 400 Kerne der 2 Tiere ergaben eine Verteilungskurve der Kerngröße, die in ein Ordinatensystem in logarithmischer Verteilung eingetragen wurde (siehe Abb. 1). Für nähere Einzelheiten der Methode verweisen wir auf folgende Arbeiten: [5,6]. Die Zunahme der Kerngröße bedeutet eine Funktionssteigerung[10].

Es zeigt sich nun, daß die Kernverteilungskurve schon nach der ersten Injektion nach rechts rückt, am 2. Tage wieder etwas zurückgeht,

am 7. Tag aber sich weit nach rechts verlagert hat. Die Kurven der übrigen dazwischen liegenden Tage haben wir nicht eingezeichnet, da sie an dem grundsätzlichen Ergebnis nichts ändern und das Kurvenbild nur verwirren würden. Die Durchschnittskerngröße der Normaltiere beträgt $11{,}55 \pm 0{,}14$, die der behandelten Tiere am 1. Tage $13{,}63 \pm 0{,}18$. Die Differenz ist bei einem $t = 9{,}05$ und $P = < 0{,}001$ hochsignifikant, ebenso die Differenz zum 7. Tag mit einem Durchschnitt der Kerngröße von $18{,}0 \pm 0{,}23$ und einem $P = < 0{,}001$.

Demnach ist schon nach der 1. Injektion eine Funktionssteigerung der Schilddrüse festzustellen. Wir haben die Verhältnisse in einer Tabelle (2) dargestellt und zur Kerngröße die Epithelhöhe in Beziehung gesetzt, außerdem die Schilddrüsengewichte eingetragen. Während die Epithelhöhe mit der Kerngröße etwa parallel läuft, ist aus dem Schilddrüsengewicht der ersten 6 Tage die Aktivitätssteigerung nicht zu erkennen. Sie wird erst am 7. und 8. Tag durch eine Gewichtszunahme deutlich. Man sieht daraus den Vorteil der Kerngrößenbestimmung für eine derartige Auswertung.

Tabelle 2.

	Versuchsdauer in Tagen							
	unbehandelt	1	2	3	5	6	7	8
Schilddrüse in mg/100 g .	17,2	15,4	14,7	12,4	18,3	17,1	19,7	22,2
Kerngröße in PE	11,5	13,6	13,3	12,7	13,3	10,5	19,5	16,4
Epithelhöhe in mm 1 : 2300	14,6	15,7	13,5	14,2	11,1	9,0	25,6	19,1

Die Kerngröße fällt nach einer Steigerung am 1. Tag bis etwa zum 6. Tag wieder leicht ab, um am 7. und 8. Tag rasch zuzunehmen. Da das Schilddrüsengewicht sich ähnlich verhält, zunächst etwas absinkt und erst vom 9. Tag an allmählich zunimmt (siehe Tab. 3), möchten wir darin keinen Zufall, sondern den Ausdruck eines Regulationsmechanismus sehen, der anfänglich nach der Seite der Zunahme ausschlägt, dann etwas zurückpendelt, bis er wieder in die erste Richtung geht.

Zu dem *Fütterungs*versuch benutzten wir 20 Ratten desselben Stammes im Gewicht von 160—200 g. Sie wurden nach den Erfahrungen des ersten Versuches mit Butazolidin im Trinkwasser gefüttert und erhielten anfänglich eine 0,2%ige Lösung, die bald auf 0,4 und zuletzt wieder auf 0,6 gesteigert wurde. Die Trinkmenge pro Tier war diesmal meist höher und betrug mitunter täglich 30 cm^3 auch bei 0,6%iger Lösung, so daß 1 Tier täglich 750 mg/kg aufnahm, also die dreifache Menge der akuttödlichen Dosis. Im Endstadium sank dann die aufgenommene Menge auf 320—350 mg/kg ab.

Von den 20 Tieren kamen 16 zur Auswertung und als Vergleich 3 Kontrolltiere derselben Gruppe. Die Ergebnisse sind auf Tab. 3 zusammengefaßt. Sie bringt das Anfangs- und Endgewicht des Tieres, das absolute Gewicht der Schilddrüse, das Gewicht dieses Organs berechnet

auf 100 g Tier und die Versuchsdauer in Tagen. Diese Art der Gewichtsangabe halten wir deshalb für notwendig, weil die Tiere, wie im 1. Versuch, zuletzt erheblich an Gewicht verloren und dadurch das relative Schilddrüsengewicht vielleicht unberechtigt zu hoch erscheint. Man kann aber aus beiden Gewichtsangaben ersehen, wie die Schilddrüse mit der Dauer des Versuches an Größe zunimmt und nach 70 Tagen das 5—6fache der Norm erreicht, also — gemessen an menschlichen Verhältnissen — eine Struma bildet.

Tabelle 3.

Tier Nr.	Anfangsgewicht in g	Endgewicht in g	Versuchsdauer in Tagen	Schilddrüsengewicht	
				Absolutes Gewicht in mg	Gewicht auf 100 g Tier in mg
Normal	165		—	23,2	14,0
„	235		—	37,8	16,8
„	160		—	22,0	13,7
37	200	150	5	20,8	14,5
36	220	215	6	20,8	9,7
27	180	180	9	18,6	10,0
8	170	130	10	41,2	31,7
39	180	120	10	44,0	36,7
35	245	165	14	30,0	18,2
48	200	110	30	27,1	24,6
38	200	130	31	42,4	32,6
50	175	180	46	74,7	41,6
93	210	140	46	83,8	59,8
95	235	200	48	61,3	30,7
47	215	130	50	33,2	25,5
31	185	140	58	34,4	67,4
28	210	150	70	83,2	55,4
75	250	160	70	184,6	114,3
46	210	210	76	153,2	73,8

Das morphologische Bild der Schilddrüse sagt nichts darüber aus, ob es sich um eine Funktionssteigerung im Sinne einer Hyperthyreose oder um einen Kompensationsversuch der Drüse handelt, nämlich ein Defizit an Thyroxin auszugleichen. Beide Vorgänge sind zu erwägen; wäre es im vorliegenden Fall eine echte Hyperthyreose, hätte man wohl ein anderes Verhalten der Tiere zu erwarten, einen rascheren Gewichtsverlust und erhöhte Nahrungsaufnahme durch gesteigerten Stoffwechsel. Das beobachteten wir nicht. Nun zeigten Green u. Mitarb. mit radioaktivem Jod, daß durch Butazolidin die Jodaufnahme in die Schilddrüse gehemmt wird. Der Schilddrüse würde also das Jod nicht in ausreichendem Maße zur Bildung des Thyroxins zur Verfügung stehen oder durch Butazolidin die Jodverarbeitung gestört sein. Die Schilddrüse kann nicht genügend Thyroxin bilden und ausschütten. Der Mangel an Thyroxin im Blut ist aber der adäquate Reiz für die Hypophyse und

ihre Sekretion von thyreotropem Hormon. Sie wird also thyreotropes Hormon in vermehrtem Maße bilden und abgeben, wodurch die Schilddrüse wiederum zu erhöhter Funktion angeregt wird. *Es läuft anscheinend derselbe Mechanismus ab, wie er von der Wirkung des Methylthiourazil angenommen wird. In diesem Falle muß auch das histologische Bild der Hypophyse dieselben Veränderungen aufweisen, wie man sie bei der MTU-Einwirkung findet. Und das ist tatsächlich der Fall.*

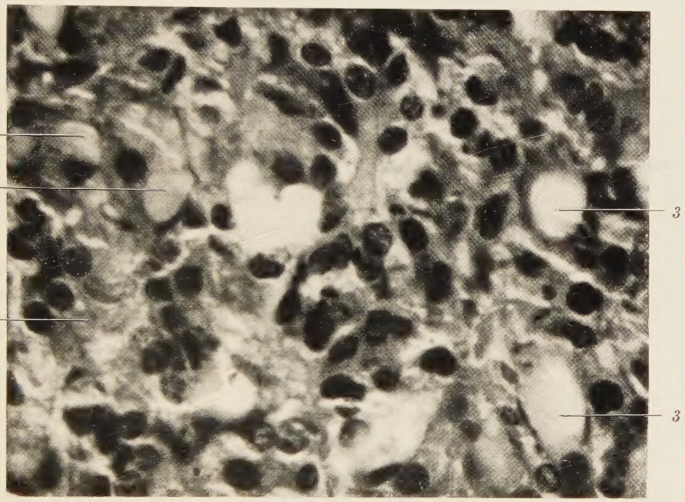


Abb. 2. Hypophyse einer Ratte (Tier 46) nach 76tägiger Fütterung mit Butazolidin. Vermehrung mit ödematöser Auflockerung und Vakuolisierung polygonaler β-Zellen als Zeichen einer funktionellen Überbeanspruchung. *1* Feinporige Auflockerung des Protoplasmas. *2* Sekretvacuolen, ausgefüllt mit einer zart gefärbten Eiweißmasse. *3* Optisch leere große Zellvacuole, sogenannte Thyreoidektomiezelle.

Bei chronischer MTU-Vergiftung kommt es nach Kracht zu einer Vermehrung der basophilen, mehr zentral gelegenen Zellelemente, die eine polygonale Form zeigen, während die peripheren, rundlich-ovalen Basophilen sich nicht verändern. Kracht unterscheidet deshalb thyreotrope polygonale und gonadotrope, mehr peripher gelegene und an den Verlauf der Gefäße gebundene, basophile Zellen. Die Thyreotropinzellen zeigen nach Kracht unter MTU nicht nur Vermehrung, sondern auch Zeichen der Hypersekretion mit Vergrößerung des Kernes und des Protoplasmaleibes, mit Auftreten von Sekretvacuolen und schließlich Veränderungen im Sinne einer vakuoligen Entartung. Dieses Endstadium wäre die sogenannte Thyreodektomiezelle als Zeichen der Erschöpfung. Man fände etwa dieselben Veränderungen in der Hypophyse wie nach vollständiger Entfernung der Schilddrüse, nur wäre die Degranulierung und Abnahme der α-Chromophilen nach Thyreodektomie vollständig, während sich nach MTU immer noch derartige Zellen nachweisen ließen.

Die eben gegebene Beschreibung ist voll und ganz auf die Hypophysen der butazolidinvergifteten Tiere zu übertragen, wie aus Abb. 2 hervorgeht, so daß sich eine nochmalige Beschreibung erübrigt. Ergänzen möchten

wir, daß der vakuoligen Auftreibung der Zellen eine ödematöse Auflockerung vorangeht, die erst in einer Granulierung, dann in einer feinwabigen Formung des Protoplasmas zum Ausdruck kommt. Schließlich bilden sich einzelne größere Vacuolen heraus, die einen deutlich erkennbaren verdichteten Protoplasmasaum als Umgrenzung zeigen. Die Vacuolen sind teilweise mit zart gefärbten homogenen Massen gefüllt, teilweise optisch leer, fließen allmählich zusammen und nehmen damit als Hohlraum den ganzen Zelleib ein. Zu ihrer Entstehung im allgemeinen und an innersekretorischen Organen im besonderen haben wir an anderer Stelle schon verschiedentlich Stellung genommen (3a und c, 4).

An Hand dieser Unterlagen kann man wohl mit Recht annehmen, daß dem Butazolidin ein ähnlicher Wirkungsmechanismus auf die Schilddrüse zukommt, wie dem Methylthiourazil.

Die Nebennieren zeigen demgegenüber uncharakteristische Veränderungen. Bei der akuten Vergiftung werden die Lipoide entspeichert und die Zellen der Fasciculata zum Teil vakuolig aufgetrieben, wie ich es 1937 an Hand des akuten Kochsalzentzuges an Nebennieren von Ratten als Zeichen einer erhöhten Beanspruchung und Sekretion dieser Drüsen beschrieb[3a]. Nach chronischer Vergiftung sieht man eine Zunahme der Lipoide, die über alle Zonen der Rinde gleichmäßig dicht verteilt sind, was wir zusammen mit Zenow[14] schon 1944 als Zeichen eines Kompensationsvorganges an Hand chronischer Abkühlungsversuche an Ratten gedeutet haben und was jetzt als Stress- und Adaptionsgeschehen angesehen wird. In demselben Sinne ist die Veränderung am Nebennierenmark zu deuten, das eine hochgradige Vakuolisierung des Protoplasmas aufweist, was nach Staemmler gleichbedeutend mit einer erhöhten Adrenalinproduktion ist[13]. Auf das parallele Verhalten von Mark und Rinde bei Belastungsversuchen der Nebenniere konnten wir verschiedentlich hinweisen[3a, b, 4].

Im ganzen gesehen sind also *die Veränderungen der Nebenniere uncharakteristisch* und nur als *Zeichen der allgemeinen Belastung* des Organismus durch die Vergiftung zu werten. Nebenschilddrüsen und Pankreas zeigen keine bemerkenswerten Veränderungen.

Das Verhalten der inneren Organe bei chronischer Butazolidinvergiftung.

Hierbei stehen vor allem die Veränderungen der Nieren, was Häufigkeit und Schwere der Erkrankungen betrifft, im Vordergrund. Schon makroskopisch fielen bei Ratten der chronischen Fütterungsversuche die großen ödematösen Nieren auf, die häufig eine feine, unscharfe, weiße Sprenkelung aufwiesen, mitunter schon mit freiem Auge das Bild einer schweren eitrigen Pyelonephritis erkennen ließen. Der Befund ist nicht so absolut regelmäßig wie die Aktivierung der Schilddrüse, gibt aber

doch bei seiner Analyse einen kleinen Einblick in die Wirkungsweise des Butozolidin auf die Niere.

Wie schon eingangs erwähnt wurde, nimmt man hauptsächlich einen Einfluß des Butazolidin auf die tubuläre Rückresorption an. Die antidiuretische Wirkung soll funktionell und nicht traumatischer Natur sein[2].

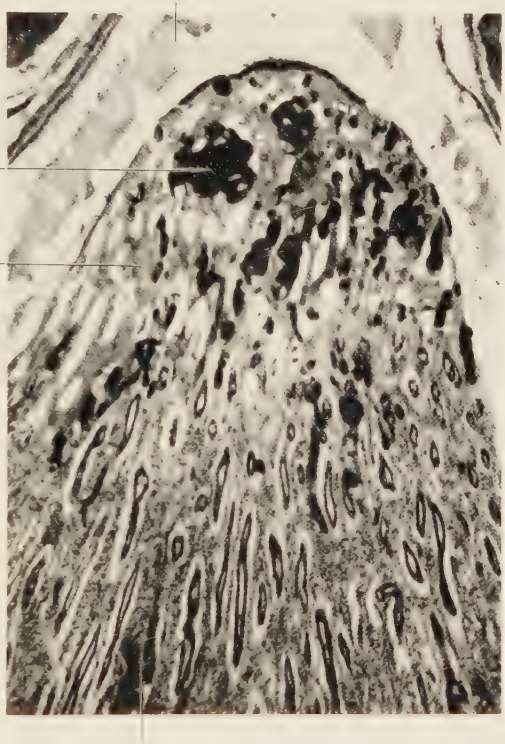


Abb. 3. Nierenpapille einer Ratte (*RB 5*) nach 52tägiger Fütterung mit Butazolidin. Großfleckige Kalkablagerungen in den Ausführungskanälchen (*1*) und Nekrose des Gewebes (*2*). *3* Nierenbecken.

Für uns bestand die Frage, wie die ödematöse Vergrößerung des Organs zustande kommt. Die Nieren zeichneten sich histologisch durch eine beträchtliche Erweiterung vor allem der abführenden Harnkanälchen im Markgebiet aus. Die Erweiterung setzte sich aber auch gelegentlich bis in das Gebiet der gewundenen Kanälchen fort. Man hatte den Eindruck einer Störung des Harnabflusses durch ein mechanisches Hindernis, zumal die Erweiterung nicht regelmäßig diffus über die ganze Niere ausgebreitet war, sondern sich häufig gruppenförmig abgrenzte. Das Epithel der Harnkanälchen und der Glomerula ließen keine Veränderung erkennen, auf die man die Störung des Harnabflusses hätte beziehen können. Bei weiterer sorgfältiger Untersuchung fand sich *an der Papillenspitze eine Ausfüllung der abführenden Kanälchen teils mit wolkigen Kalkmassen*, teils mit kristallähnlich geformten Cylindern, in fortgeschrittenen Fällen außerdem *eine Nekrose der Papillenspitze* (siehe Abb. 3). Die Kalkmassen griffen auch auf das interstitielle Bindegewebe über und riefen leukocytäre Reaktionen hervor.

Mit dieser Veränderung findet nun ohne weiteres die gehäufte pyelogene eitrige Nephritis ihre Erklärung. Nekrotischer Zerfall der

Papillenspitze und Abflußbehinderung führen zu Entzündung im Nierenbecken und zu aufsteigenden Prozessen im Nierenparenchym, deren Einzelheiten wir nicht zu schildern brauchen.

Auf Grund dieses Versuchsergebnisses wäre zumindest *ein Teil der gestörten Nierenausscheidung als mechanisch bedingt* anzusehen. Wir glauben aber nicht, daß diese Erklärung auf die Nierenfunktionsstörung, wie man sie bei der klinischen Anwendung des Butazolidin beobachtet, ohne weiteres übertragbar ist, möchten vielmehr in den Veränderungen, die wir eben vorwiesen, eher *den Ausdruck und die Folge einer gestörten Ausscheidungsfunktion der Niere* und nicht die Ursache sehen und dazu noch auf folgende, nicht sehr eindrucksvolle und nicht häufige Befunde hinweisen, die aber zeigen, daß auch der tubuläre Apparat morphologisch nicht ganz unbeteiligt ist. Hin und wieder fanden sich auch Kalkablagerungen in diesem Bereich, die meist nur zart, stellenweise etwas gröber waren, wie es die Abb. 4 bringt. Auch dieser Befund würde nach unserer Auffassung die gestörte Ausscheidung, die im tubulären Apparat liegt, nur anzeigen, aber nicht verursachen. Wie weit dann zusätzlich mechanische Hindernisse im Sinne der eben erwähnten Experimente hinzutreten können, wäre eine Frage weiterer Untersuchungen. Zumindest läßt sich aus dem Ergebnis folgern, daß der *Ort der durch Butazolidin gestörten Ausscheidung in der Niere selbst liegt* und nicht zentral beeinflußt wird.

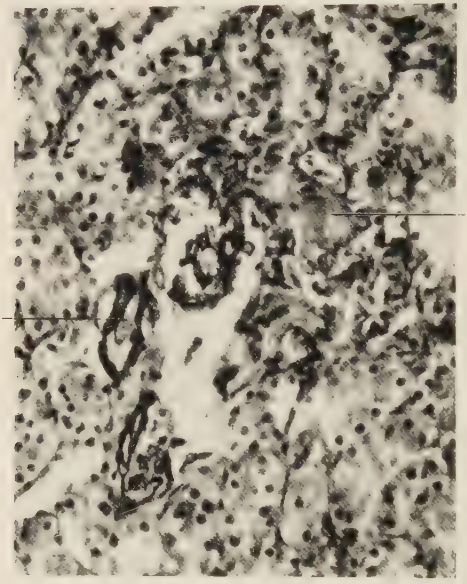


Abb. 4. Niere einer Ratte (38) nach 31tägiger Fütterung mit Butazolidin. Kalkablagerungen im Bereich der Tubuli recti (*1*).

Als weiteren eindrucksvollen Befund beobachteten wir bei unserer 2. akuten Injektions- und chronischen Fütterungsreihe *perforierende Magen- und Darmgeschwüre*. Die Tiere gingen an einer akuten Peritonitis zugrunde. An den 30 Injektionstieren beobachteten wir diese Veränderung 7mal, an den 20 gefütterten Tieren 5mal. Die Wandgeschwüre traten in den ersten 8—10 Versuchstagen auf und waren bei den Tieren, die diese Zeit überstanden, nicht mehr zu bemerken. Hier könnte man von einem Gewöhnungseffekt sprechen. Wir haben uns auch gefragt,

warum in den ersten beiden Versuchen diese Geschwüre nicht auftraten. Für diese Experimente stand uns reines Butazolidin zur Verfügung, für die nächsten erhielten wir solches, wie es in der Klinik angewendet wird. Ob dabei ein Zusatz diesen Effekt des Butazolidin auslöst, wäre zu erwägen.

In der Literatur wird von Kuzell und Schaffarzick als Nebenwirkung der Butazolidin-Therapie unter anderem auf Aktivierung von Magen- und Darmulcera und auf eine Stomatitis aufmerksam gemacht. Hazleton und Mitarb. beschrieben nach chronischer Vergiftung an Hunden das Auftreten von blutigen Diarrhöen. Diese Beobachtungen sprechen wohl in demselben Sinne wie unsere Befunde.

Am Magenulcus ist bemerkenswert, daß es im Drüsenmagen sitzt; denn die Untersucher, die sich experimentell mit der Entstehung des Magengeschwürs an Rattenmägen befassen, können ausschließlich Geschwüre des plattenepithelbedeckten Vormagens beschreiben, wo sie auch gehäuft spontan auftreten[1a]. Das Darmgeschwür zeigt dieselben Formen wie das Magengeschwür mit einer fibrinoiden Nekrose unter einer zelligen Exsudatschicht (siehe Abb. 5).

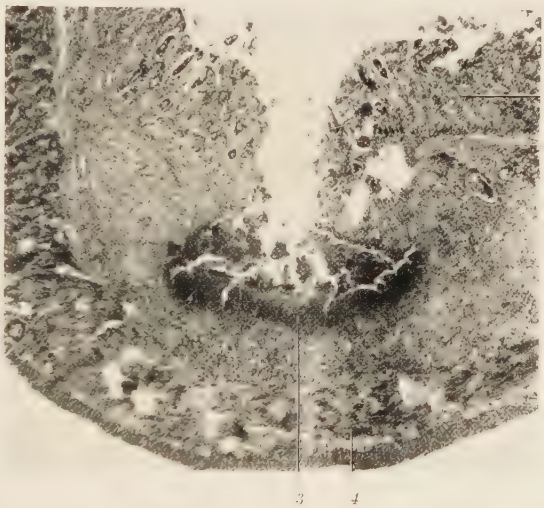


Abb. 5. Ulcus des Dickdarmes einer Ratte nach 6tägiger Butazolidinvergiftung. *1* Schleimhaut. *2* Muscularis mucosae. *3* Ulcusgrund. *4* Muscularis.

Die Ursache dieser Geschwüre ist an Hand der histologischen Präparate nicht zu klären; ein Gefäßprozeß, worauf wir besonders achteten, ist nicht zu finden, obwohl eine Gefäßwirksamkeit des Butazolidin angegeben wird[9]. Anfänglich besteht im Darm eine Entzündung der Schleimhaut mit oberflächlichen Nekrosen, die anscheinend unaufhaltsam und sehr rasch in die Darmwand vordringen. Aus den Beobachtungen am Injektions- und Fütterungsversuch geht hervor, daß die direkte Einwirkung des Butazolidin auf die Schleimhaut für ihre Erkrankung nicht entscheidend ist.

Der nach dem histologischen Bild unwesentliche Einfluß auf die Leber wurde oben schon erwähnt. Ebenso konnten wir an den übrigen Organen keine besonderen Veränderungen feststellen.

Zusammenfassung.

1. Bei chronischer Vergiftung von Ratten mit subletalen Dosen von Butazolidin läßt sich zeigen, daß keine oder nur eine unerhebliche Gewöhnung des Organismus an diesen Stoff eintritt.

2. Unter dieser Butazolidinvergiftung kommt es zu einer Aktivierung der Schilddrüse, die mit karyometrischer Auswertung schon 1 Tag nach der 1. Injektion nachzuweisen ist und im chronischen Fütterungsversuch zu Kropfbildung führt.

3. Nach dem Verhalten der Tiere, dem histologischen Bild der Hypophyse und Untersuchungen amerikanischer Autoren über den Einfluß des Butazolidin auf die Jodbildung der Schilddrüse mittels radioaktiven Jods ist anzunehmen, daß Butazolidin auf die Schilddrüse eine ähnliche Wirkung wie Methylthiouracil entfaltet.

4. An den übrigen innersekretorischen Organen, insbesondere den Nebennieren, sind nur die Zeichen einer unspezifischen allgemeinen Belastung erkennbar.

5. Bei chronischer Vergiftung findet man gehäuft in den Nieren Nekrosen der Papillenspitzen und Kalkablagerung in den Ausführungskanälchen, die den Nierenabfluß mechanisch behindern. Diese Veränderungen können zu schweren pyelonephritischen Prozessen führen. Sie werden zusammen mit geringen Kalkablagerungen im tubulären System als Ausdruck und Folge, aber nicht als Ursache der klinisch beobachteten gestörten Ausscheidungsfunktion der Niere angesehen.

6. Es traten gehäuft perforierende Geschwüre des ganzen Magen-Darmkanals auf. Die Ulcera entstehen auf dem Boden einer Entzündung der Schleimhaut mit oberflächlichen Nekrosen. Die eigentliche Ursache dieser Veränderung ist an Hand der histologischen Bilder nicht zu klären.

7. Die übrigen Organe bleiben bei chronischer Butazolidinvergiftung im wesentlichen unverändert.

Literatur.

[1] Bazzi, U., u. F. Manzo: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **29**, 12 (1953). — [1a] Büchner, F.: Die Pathogenese der hepatischen Veränderungen. Jena: G. Fischer **1931**. — [2] Dupont, P., A. Duckert-Maulbetsch u. F. Fabre: Helvet. med. Acta **19**, 528 (1952). — [3] Eger, W.: a) Verh. dtsch. path. Ges. **30**, 307 (1937); b) Virchows Arch. **309**, 811 (1942); c) Ärztl. Forsch. **4**, 349 (1950). — [4] Eger, W., W. Gottelsleben u. M. Tietjen: Virchows Arch. **324**, 173 (1953). — [5] Eger, W., u. H. D. Gothe: Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen der Hypophyse zu den Nebenschilddrüsen. Z. exper. Med. **124**, 310 (1954). — [6] Eger, W., u. H. van Lessen: Beiträge zu einer funktionellen Deutung der Zelltypen menschlicher Epithelkörperchen. Beitr. path. Anat. im Ersch. — [7] Green, Th. W., W. E. White, E. P. Engelmann and M. A. Krupp: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **82**, 155 (1953). — [8] Hazleton, L. W., Th. W. Tusing and E. G. Holland: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 387 (1953). — [9] Hockerts, Th., u. R. Zabka: Arch. internat. Pharmacodynamie **41**, 1 (1952). — [10] Jacobj, W.: Arch. Entw. mechan. **106**, 124 (1925); **141**, 584 (1942). — [11] Kracht, J., u. M. Spaethe: Virchows Arch. **323**, 174 (1953). — [12] Kuzell, W. C., and R. W. Schaffarzick: Bull. Rheum. Diseases **3**, 23 (1952). — [13] Staemmler, M.: Beitr. path. Anat. **91**, 30 (1933). — [14] Zenow, Z. I.: Virchows Arch. **312**, 486 (1944).

Dozent Dr. W. Eger, Göttingen, Pathol. Inst. d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 13—23 (1955).

Aus der Inneren Abteilung des Krankenhauses Hubertus, Berlin-Schlachtensee, und der Nervenklinik Waldhaus, Berlin-Nikolassee.

Über den polarisatorischen Widerstand der menschlichen Haut nach Elektrolytbelastung.

Von

H. Storz und A. Voelkel.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. Juli 1954.)

Die folgenden Untersuchungen umfassen Beobachtungen, die durch Aufzeichnung eines gewebsaufladenden Gleichstromes vor und nach Elektrolytbelastung mit Hilfe der von uns entwickelten Methode des Elektropermeagramms (EPG) registriert wurden. Das Beobachtungsorgan ist die intakte Haut des lebenden Organismus. Es wurde bereits anderen Ortes ausgeführt[18-21, 38], daß durch die Anwendung des EPG eine Differenzierung von polarisatorischem Widerstand und polarisationsfreiem Anfangswiderstand des Gewebes durch meßtechnische und rechnerische Analyse durchführbar ist. Die Bemühung um die Vornahme einer solchen Differenzierung erschien uns deshalb als notwendig, weil die Erfassung des polarisatorischen Widerstandes, die durch Subtraktion des Anfangswiderstandes vom End- oder Grenzstrom-Widerstand ermöglicht wird, eine Beurteilung jener elektrophysikalischen Vorgänge zuläßt, die als elektromotorische Gegenkräfte des Gewebes der angelegten Spannung entgegenwirken. Denn durch die Eliminierung des Anfangswiderstandes entfallen unter anderem die in ihm enthaltenen Anteile der Nebenschlüsse und Stromschleifen, und es resultiert der reine polarisatorische Widerstand mit den Anteilen des Doppelschicht- und des Konzentrationspotentials. Während die Flächendichte der elektrischen Ladung in der Doppelschicht eine Funktion der Potentialdifferenz an dieser Stelle ist, ergibt sich die Höhe des Konzentrationspotentials aus den Konzentrationsdifferenzen der Elektrolyte beiderseits der Membranen (Bethe u. Toropoff[1], Gerstner[12], Gildemeister[13], Hozawa[18], Krüger[23], Lullies[25], Schaefer[35], Seelich[43], Wilbrandt[10]). Der anatomische Sitz dieser Vorgänge ist bei unserer Versuchsanordnung vornehmlich die lebende Schicht der Epidermis unterhalb der Fläche der hier verwandten unpolarisierbaren Flüssigkeitselektroden.

Wenngleich beide Potentiale in einer Funktion zur Membranstruktur stehen, so ist in bezug auf die Ausbildung von Konzentrationspotentialen zu beachten, daß Konzentrationsphänomene nicht immer

Membranphänomene zu sein brauchen; d. h. die Leitfähigkeit der Membran braucht nicht parallel zur Konzentration zu gehen (Bethe u. Toropoff[1], Lullies[26], Netter[31]).

In Erweiterung unserer bisherigen Erfahrungen mit physiologisch wirksamen Kationen[37] dehnten wir für die vorliegenden Untersuchungen unsere Beobachtungen außer auf Kalium und Calcium auch auf die Prüfung der Wirksamkeit von Magnesium und Natrium auf den Hautwiderstand aus. In orientierenden Vorversuchen wurden zunächst kationenäquivalente Lösungen von K_2SO_4, $MgSO_4$, Na_2SO_4 und $CaCl_2$ jeweils an derselben Versuchsperson an fünf aufeinanderfolgenden Tagen beginnend mit einem Leerversuch am ersten Tage angewandt. Von einer durchgehenden Verwendung des Anions Cl sahen wir ab, nachdem wir nach intravenöser Applikation von KCl zuweilen Intimareizerscheinungen beobachtet hatten.

Jeder Tagesversuch umfaßt eine Gesamtdauer von 10—15 min und besteht aus insgesamt 10—15 Einzelmessungen, die in Abständen von einer Minute aufeinanderfolgen. Die Durchströmungsdauer der Einzelmessung beträgt etwa 1 sec, so daß das Gewebe für etwa 59 sec durch Abschalten der Spannungsquelle entladen wird. Über die Meßtechnik der Methode, die Auswertung des EPG sowie über Beachtung und Einhaltung kritischer Kautelen haben wir an anderer Stelle ausführlich berichtet[37,38], so daß wir von einer Wiederholung absehen können. Jede Versuchsreihe begann mit Eigenversuchen.

Nachdem wir in Bestätigung früherer Ergebnisse nach intravenöser Applikation von 10 ml einer 3%igen K_2SO_4-Lösung (3,44 mval/10 ml) im 10 min-Versuch regelmäßig ein deutliches Absinken des polarisatorischen Widerstandes im Vergleich zum Leerversuch beobachtet hatten, sahen wir nur, wenn auch mit schwächerem Effekt, nach $MgSO_4$ in kationenäquivalenter Konzentration eine ähnliche Wirkung gleicher Tendenz. Na_2SO_4 und $CaCl_2$ ließen bei Verwendung kationenäquivalenter Lösungen keine Wirksamkeit im EPG erkennen. Wir gingen daher im Vergleich zu K_2SO_4 zu höheren Konzentrationen über und verwandten für die folgenden Untersuchungen: 10 ml 4,2%ige $MgSO_4$ (6,98 mval/10 ml), 10 ml 10,0%ige $CaCl_2$ (18,02 mval/10 ml) und 10 ml 10,0%ige Na_2SO_4 (14,09 mval/10 ml).

Abb. 1 zeigt aus der Reihe dieser Untersuchungen fünf Beispiele. Die Wiedergabe der Originalkurven erfolgt hier zunächst nur zur Veranschaulichung eines solchen Versuches sowie zur Orientierung über die spezifischen Veränderungen im EPG nach 10 min, die schon aus der Übersicht deutlich werden. Eine vergleichende quantitative Auswertung kann hier noch nicht vorgenommen werden, da es sich um verschiedene Individuen unter verschiedenartiger Kationenbelastung handelt. Wir werden jedoch sehen, daß die in der Abb. 1 jeweils erkennbare Spezifität des Kationeneffektes auch dann erhalten bleibt und in Erscheinung tritt,

wenn die verschiedenartigen Belastungen bei ein und demselben Individuum durchgeführt werden.

Als markante Veränderung im EPG der Abb. 1 erfolgt im Vergleich zum Leerversuch nach 10 min ein Anstieg des Grenzstromes (g), deutlich nach $MgSO_4$ und K_2SO_4 und schwach nach Na_2SO_4. Ein entgegengesetztes

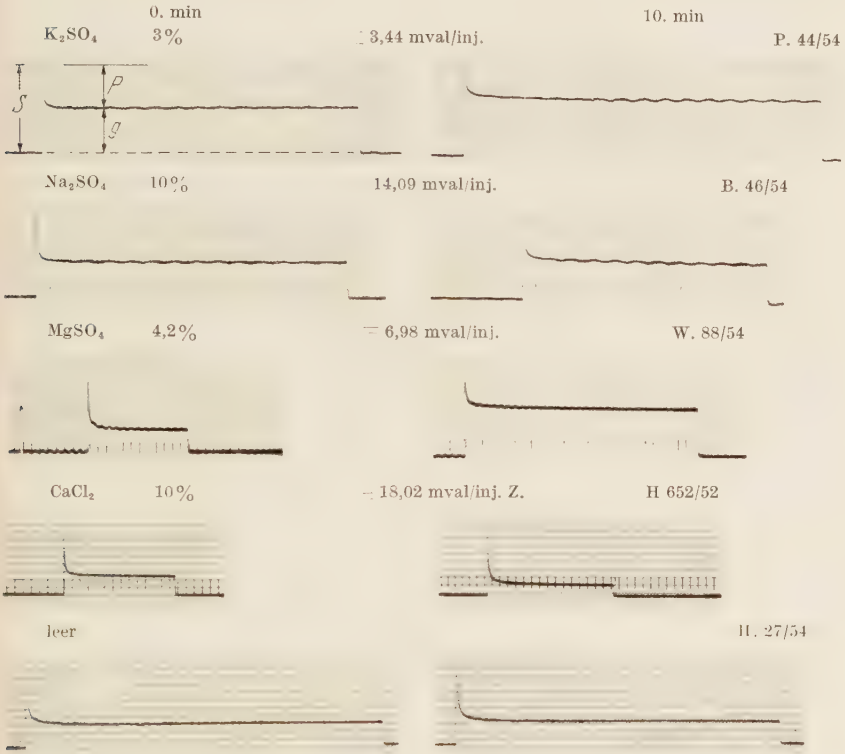


Abb. 1. EPG-Originalkurven nach Kationeneinwirkung bei jeweils derselben Vp. im 10 min-Versuch. Dosierung in Kationen-Milliäquivalenten/10,0 ml (mval/Injektion i.v.) in Höhe deutlicher Wirksamkeit.

Verhalten sehen wir nach $CaCl_2$. Da der Grenzstrom als ein wesentlicher Faktor für die Beurteilung des polarisatorischen Widerstandes (r) besonders bei höheren Polarisationsspannungen zu werten ist, so läßt sich schon aus der Übersicht dieser Abbildung folgern, daß in den vorliegenden Beispielen nach K und Mg eine deutliche, und nach Na eine schwache Widerstandssenkung anzunehmen ist, während nach Ca eine Widerstandssteigerung erfolgt.

Für die exakte Berechnung des polarisatorischen Widerstandes r ist, wie bereits erwähnt, die Berücksichtigung des Anfangswiderstandes bzw. des Initialstromes (s)

unumgänglich. Die Beziehungen sind in früheren Veröffentlichungen in extenso behandelt[19, 38]. Danach berechnet sich der polarisatorische Widerstand zu

$$r = \frac{U_E \cdot c}{100 \cdot U_c} \cdot \frac{R_v}{g} \cdot \frac{p\%}{g} [k\,\Omega];$$

$$\text{Polarisationsgrad } p\% = \frac{s - g}{s} \cdot 100\,[\%].$$

Bei den nun folgenden Reihenuntersuchungen, die 20 Versuchspersonen umfassen, wurden zum Zweck eines Vergleichs bei jeweils demselben Individuum an verschiedenen Tagen, beginnend mit dem Leertage, die verschiedenartigen Elektrolytbelastungen ausgeführt. Eine solche Versuchsreihe umfaßt also 5 aufeinanderfolgende Tage bei derselben Person. Zur Sicherung einer Vergleichmöglichkeit wurde darauf geachtet, daß die Ausgangslage, d. h. die Polarisationsspannungen, jedesmal annähernd die gleichen wie am Leertage waren. In der Mehrzahl der Fälle konnte der Versuch an 5 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt werden. Jedoch war in einzelnen Fällen ein größerer Zeitraum erforderlich, wenn an einzelnen Tagen Schwankungen des Ausgangswertes auftraten und abgewartet werden mußte, bis die Ausgangslage des Leertages annähernd wieder erreicht worden war. Für die Möglichkeit einer exakten Auswertbarkeit der Exponentialkurven, d. h. für die Bestimmung von $\varkappa_1$, aber auch zur Einhaltung eines möglichst gleichmäßigen Beobachtungsgutes wurden nur Ausgangswerte mit einem Polarisationsgrad von über 50% für einen Versuchsansatz verwandt.

Abb. 2 gibt die Ergebnisse in Mittelwerten wieder, wobei im zeitlichen Verlauf die prozentualen Abweichungen vom Ausgangswert des polarisatorischen Widerstandes (r) angegeben sind. Wir sehen im 10 min-Versuch nach Kalium und Magnesium ein Absinken von r in beiden Fällen um 40%, wobei für Mg im Vergleich zu K die doppelte Konzentration in Milligramm-Äquivalenten verwandt werden mußte. Antagonistisch dazu liegt der Effekt von Calcium mit einem Anstieg von r um über 50%. Andererseits zeigt sich ein schwaches Absinken des Widerstandes auch nach Natrium, jedoch nach der relativ hohen Konzentration von 19,07 m-val pro Injektion. Erwähnenswert erscheint uns, daß geringere Konzentrationen von Na keine Veränderungen zeigen, die über den Bereich der physiologischen Schwankungen eines Leerversuches hinausgehen. Das Absinken von r bei Verwendung der hohen Na-Konzentration beträgt jedoch nur knapp 20% im Vergleich zum Ausgangswert. Dabei ist zu ergänzen, daß in diese Mittelwertskurve sogar vier Fälle aufgenommen wurden, die einen Anstieg von r im Sinne eines Calciumeffektes zwischen 9 und 12% erkennen ließen. Diese Abweichung in der Natriumreihe war deshalb auffallend, weil innerhalb der übrigen Beobachtungen nach K, Mg und Ca stets das in der Abbildung zum Ausdruck kommende konforme Verhalten spezifischer Tendenz vorhanden war.

Nach K tritt also der stärkste Effekt im Sinne einer Widerstandssenkung auf. Denn es bedurfte für K im Vergleich zu Mg nur etwa der Hälfte der äquivalenten Menge, um einen gleichen Effekt zu erreichen.

Die Widerstandssteigerung nach Calcium im EPG hatten wir bereits in früheren Untersuchungen[37] beschrieben und dabei die Erfahrung gemacht, daß kationenäquivalente Mengen von Calcium im Vergleich zu Kalium keine deutliche Wirksamkeit erkennen ließen. Es bedurfte einer höheren Konzentration von Ca, um einen Antagonismus zu K zu erzielen.

Freilich kann man graduelle Auswertungen dieser Art nur mit der Einschränkung vornehmen, daß außer der Dosierung auch die jeweilige Ausgangslage zu berücksichtigen ist, die auch bei der vorliegenden Versuchsreihe trotz Einhaltung der beschriebenen Kautelen einer Forderung nach absoluter Einheitlichkeit kaum entsprechen kann. Insonderheit aber bleibt zu bedenken, daß gleichen oder ähnlichen Veränderungen des polarisatorischen Widerstandes ganz verschiedenartige Ursachen und Wirkungsmechanismen der Elektrolyte zugrundeliegen können.

In Erweiterung bisheriger Erfahrungen blieb noch zu prüfen, ob der Antagonismus zwischen Kalium und Calcium, den wir auch im 20 min-Versuch in der Mehrzahl der Beobachtungen vorfanden und beschrieben hatten[37], sich ebenfalls für Mg-Ca bestätigte. Wir wählten daher dieselbe Versuchsanordnung und injizierten die Elektrolyte in einem Versuchsgang im Abstand von 10 min. Abb. 3 gibt ein Beispiel aus dieser Untersuchungsreihe wieder.

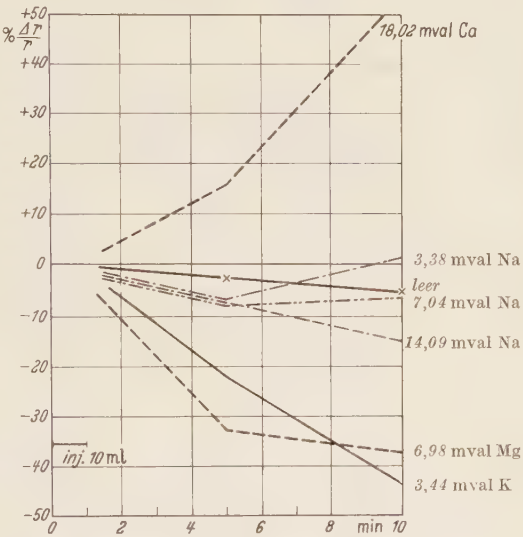


Abb. 2. Mittelwertkurven von denselben 20 Vpn. vor und nach jeweiliger Elektrolytbelastung. Ordinate: Änderung des polarisatorischen Widerstandes r in relativer prozentualer Beziehung zum Ausgangswert. Abszisse: Beobachtungsdauer in Minuten. Injektion zwischen 0 und 1. min. Beachte die Veränderungen im Vergleich zur Leerkurve. Der Durchschnittliche Ausgangs-Polarisationsgrad liegt in allen Untersuchungen über 50%.

Wir sehen auch in diesem Versuch ein deutliches Absinken des Widerstandes nach Magnesium nach der 10. min, schon aus der Übersicht erkenntlich an dem Anstieg des Grenzstromes, und es erfolgt ein reziprokes Verhalten nach Calcium mit einem Anstieg von r über die Ausgangslage des Leerwertes hinaus nach der 20. min.

Die bisher beschriebenen Veränderungen beziehen sich auf die Einwirkung der Ionen auf den gesamten polarisatorischen Widerstand. Zur Erörterung der Frage, ob Widerstandsveränderungen auch zu einer Beurteilung von Membranphänomenen herangezogen werden können, erschien es uns erforderlich, eine Differenzierung von r in seine beiden

Anteile, nämlich in den Widerstand des Doppelschichtpotentials ($r[D]$) sowie in den Widerstand des Konzentrationspotentials ($r[K]$) vorzunehmen, um zu untersuchen, ob eine differenzierte Einwirkung auf beide Anteile zu beobachten ist.

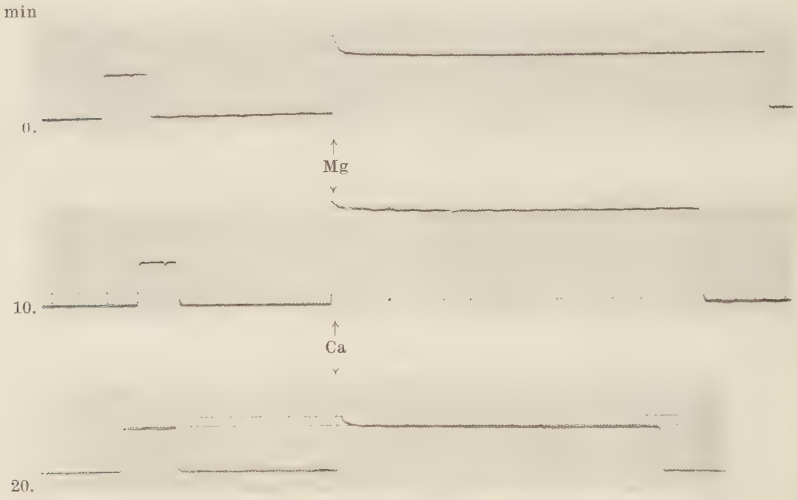


Abb. 3. Kurvenbeispiel für Mg-Ca-Antagonismus im 20 min-Versuch. Auswertung siehe Tab. 2 (Prot. Nr. 141/54).

Die Differenzierung dieser beiden Anteile geschieht ebenfalls mit Hilfe der Berechnung von $\varkappa_1$ und $\varkappa_2$ aus der logarithmischen Darstellung der Exponentialkurve des EPG. Unter Berücksichtigung des Ersatzschaltbildes[21] lassen sich die beiden Abfallfunktionen folgendermaßen darstellen. Die Aufladung der Doppelschicht erfolgt nach der Funktion:

$$f(C_1,t) = (s_0[D] - s_0[K]) \cdot e^{-\varkappa_1 t},$$

die der Konzentrationskapazität:

$$f(C_2,t) = (s_0[K] - g) \cdot e^{-\varkappa_2 t}.$$

Unter Berücksichtigung des erweiterten Ersatzschaltbildes müssen sich die Widerstände bzw. die Spannungen der in Reihe liegenden Systeme im aufgeladenen Zustand addieren, so daß der Anfangswert $s_0[K]$ der Endwert der Funktion $f(C_1, t)$ ist. Hieraus berechnet sich in Analogie zur Berechnung des gesamten polarisatorischen Widerstandes der polarisatorische Widerstand der Doppelschichtkapazität zu:

$$\begin{aligned} r[D] &= (R + r[D]) - R \\ &= \frac{U_E \cdot c \cdot R_v}{U_c} \cdot \left(\frac{1}{s_0[K]} - \frac{1}{s_0[D]} \right). \end{aligned}$$

Entsprechend berechnet sich der polarisatorische Widerstand der Konzentrationskapazität zu:

$$\begin{aligned} r[K] &= Rg - (R + r[D]) \\ &= \frac{U_E \cdot c \cdot R_v}{U_c} \cdot \frac{s_0[K] - g}{g \cdot s_0[K]}. \end{aligned}$$

Eine ausführliche Ableitung erfolgt an anderer Stelle[22].

Tab. 1 gibt die erhobenen Befunde in einer weiteren Untersuchungsreihe von 10 Untersuchten in Mittelwerten von $r[D]$ und $r[K]$ wieder.

Tabelle 1. *Das Verhalten des unpolarisatorischen Anfangswiderstandes R und der polarisatorischen Widerstände der Doppelschicht $r[D]$ sowie der Konzentrationsketten $r[K]$ und deren mittlere prozentuale Abweichung vom Ausgangswert nach Kationeneinwirkung. (Mittelwerte aus je 10 Untersuchungen.)*

	t min	R kΩ	$r[D]$ kΩ	$r[K]$ kΩ
K_2SO_4 (3,44 mval)	0	26,9	68,6	48,2
	5	29,2	45,1	26,0
	10	29,8	42,0	15,8
Δ %		+ 6,3	— 35,8	— 67,3
$MgSO_4$ (6,98 mval)	0	19,9	76,7	20,0
	5	15,5	71,0	15,5
	10	19,1	50,8	12,5
Δ %		— 4,0	— 33,8	— 37,5
$CaCl_2$ (18,02 mval)	0	19,0	52,9	21,6
	5	23,9	65,7	54,1
	10	25,2	80,1	34,3
1 %		+ 32,3	+ 33,6	+ 58,8
Na_2SO_4 (14,09 mval)	0	20,3	47,9	16,7
	5	16,9	42,6	20,4
	10	20,9	46,5	9,2
Δ %		+ 3,0	— 2,9	— 44,8

Die auffallendste Abweichung betrifft die Widerstandsveränderungen nach Na_2SO_4. Während die übrigen Elektrolytbelastungen eine deutliche Einwirkung auf beide Widerstandsanteile verschiedenen Grades erkennen lassen, sehen wir nach Na_2SO_4 nur im Widerstand des Konzentrationspotentials einen Effekt mit einer Senkung dieses Widerstandes um —44,9%, während das Doppelschichtpotential sowie der Anfangswiderstand R nicht betroffen werden. Nach K und Mg erfolgt in beiden Anteilen eine deutliche Widerstandssenkung, wobei für Kalium die von $r[K]$ stärker als die von $r[D]$ in Erscheinung tritt. Antagonistisch zu diesen Ergebnissen sehen wir eine Widerstandssteigerung nach Calcium mit stärkerem Effekt in $r[K]$ als in $r[D]$.

In der gleichen Weise haben wir für den Mg-Ca-Versuch der Abb. 3 eine Differenzierung dieser Art vorgenommen.

Die Tabelle gibt die Veränderungen der differenzierten Widerstandswerte in kΩ wieder. Im Gegensatz zu dem Verhalten der Widerstände nach Na_2SO_4 sehen wir hier in $r[D]$ markante Abweichungen vom Ausgangswert. Hierbei erfolgt nach Magnesium in $r[D]$ eine Widerstands-

abnahme von 18,5 kΩ auf 2,7 kΩ und antagonistisch nach Calcium ein brüsker Anstieg von $r[D]$ auf 37,8 kΩ. Das Verhalten von $r[K]$ zeigt konforme Veränderungen.

Tabelle 2. *Verhalten von R, r[D] und r[K] im Mg-Ca-Versuch der Abb. 3.*

t min	R kΩ	$r[D]$ kΩ	$r[K]$ kΩ
0	31,6	18,5	3,3
10	28,3	2,7	1,8
20	27,8	37,8	2,1

Besprechung der Ergebnisse.

Wenn wir im folgenden den erhobenen Befunden eine Erklärung zu geben versuchen, so ist zunächst zu berücksichtigen, daß es sich um Einwirkungen auf die passive Elektromotorik der menschlichen Haut handelt. Danach sehen wir im angelegten elektrischen Feld nach verschiedenartiger Elektrolytbelastung eine Senkung des polarisatorischen Widerstandes (r), deutlich nach Kalium und Magnesium und schwächer nach Natrium. Demgegenüber erfolgt ein Anstieg des Widerstandes nach Calcium. In bezug auf die Spezifität des Elektrolyteffektes muß die Frage entstehen, ob es sich hierbei um eine unmittelbare oder mittelbare Beziehung von Ursache und Wirkung handelt. Schließlich erfolgt die Differenzierung des polarisatorischen Widerstandes in seine Anteile, um zu erfahren, ob auch Schlüsse auf die *Membranstruktur* im Sinne einer Veränderung ihrer Leitfähigkeit zulässig sind.

Bei der Beurteilung des Effektes nach Na_2SO_4 erklären wir die gefundene Widerstandssenkung in $r[K]$ mit einer Zunahme der extracellulären Stromträgerdichte und der erschwerten Ausbildung von Konzentrationseffekten in einem salzhaltigen Milieu. Die Wirkung ist trotz einer relativ hohen Konzentration der zugeführten Substanz nur schwach, da der extracelluläre Na-Spiegel schon physiologisch hoch liegt. Daher tritt ein Effekt bei unseren Untersuchungen bei geringerer Konzentration von Na_2SO_4, die Abb. 2 erkennen läßt, gar nicht in Erscheinung. Bei der Betrachtung der differenzierten Anteile von r sehen wir eine Veränderung nur von $r[K]$ (Tab. 1), während $r[D]$ unbetroffen bleibt. Dieser Befund kann mit der oben zitierten Auffassung in Übereinstimmung gebracht werden, wonach Konzentrationsphänomene keine Membranphänomene zu sein brauchen. Dies würde bedeuten, daß bei der vorliegenden Anordnung passiver Elektromotorik auf eine mangelnde Membranaffinität von Natrium zu schließen wäre, die im Unterschied zu seinem Verhalten bei aktiver Elektromotorik vorliegt (Dean[6], Ussing[39], Stämpfli[44]).

Die Widerstandsabnahme nach Kalium entspricht unseren bisherigen Erfahrungen[37] und kommt sowohl in $r[D]$ als auch in $r[K]$ zum Ausdruck.

Im Vergleich zu Na sehen wir jedoch die Einwirkung auf $r[D]$ als primär an und erklären die Senkung des Konzentrationspotentials als Folge des Effektes auf die Doppelschicht. Eine solche Auffassung steht in Übereinstimmung mit der starken Zell- und Membranaffinität des Kaliums (Hoeber[17], Netter[29, 30], Riesser[34], Schaefer[35], Wilbrandt[40], Brock, Druckrey u. Herken[34], Black[3], McArdle, Merton[28], Darrow[7], Klinke[18], Kühlmayer[24], Martin[27]) und seiner auflockernden Wirkung bei Erhöhung seiner pericellulären Außenkonzentration (Curtis, Cole[5], Fleckenstein[11], Fleckenstein, Hardt[10], Hodgkin, Huxley[16], Overton[33]). Es kommt zu einem Verlust der Membraneigenschaften und zum Auftreten von Nebenschlüssen mit dem Ergebnis einer Senkung des Doppelschichtpotentials und infolge hiervon auch zu einem Absinken des Konzentrationspotentials. Diese aus der Reizphysiologie übernommenen Erkenntnisse spiegeln sich für unsere Untersuchungen in $r[D]$ wieder. Aus dieser Beobachtung gelangen wir unter weiterer Differenzierung unserer früheren Anschauung[19, 37, 38] zu der Ansicht, *daß das Verhalten des polarisatorischen Widerstandes der Doppelschicht bzw. deren Leitwert* $\left(\frac{1}{r[D]}\right)$ *als Bezugswert für die Beurteilung der Membranpermeabilität gelten kann.*

Über das antagonistische Verhalten von Calcium zu Kalium hatten wir bereits früher berichtet[37] und sehen die vorliegenden Ergebnisse als Bestätigung unserer Befunde an. Wir erklärten die Steigerung des Widerstandes nach Calcium mit der bekannten dehydratisierenden Wirkung der Ca-Ionen an biologischen Grenzflächen im Sinne ihrer Abdichtung (Hansteen, Cranner[14]), wobei nach den Untersuchungen von Seelich[42] und K. J. Netter[32] eine Zunahme der Grenzflächenspannung durch Bildung von undissoziierten Ca-Trägerkomplexen in der Grenzschicht erfolgt. Für unsere Versuchsanordnung mit der Anlegung eines elektrischen Feldes könnte man aus diesen Ergebnissen auf eine erhöhte Polarisation, d. h. auf einen erhöhten Spannungsabfall an Grenzflächen schließen, deren Nebenschlüsse durch die Bildung von undissoziierten Ca-Verbindungen molekular oder mikroskopisch im Sinne von Beutner[2] oder Michaelis[29] verändert worden sind. Eine solche Auffassung unterstreicht in unseren Untersuchungen insbesondere die Verhaltensweise von $r[D]$ und $r[K]$ im Magnesium-Calcium-Versuch (Tab. 2, Abb. 3). Indessen ist in Anbetracht der von uns verwandten hohen Ca-Konzentration nach deren Verabfolgung meist die bekannten vasomotorischen Reaktionen zu beobachten waren, zu erwägen, ob nicht außer der beschriebenen unmittelbaren Ca-Wirkung auch ein mittelbarer nervöser Wirkungsmechanismus den gefundenen Widerstandsveränderungen zugrundeliegen kann (Lullies[26], Droese[8], Engel, Martin, Taylor[9], Schein, Riesser[36]).

Als einen nervös bedingten Effekt möchten wir in unseren Untersuchungsreihen auch die beschriebenen Widerstandssenkungen nach Magnesium auffassen. Freilich setzt diese Ansicht auch hier eine nervöse Regulation der Hautzelle voraus, wofür wir experimentelle Belege demnächst glauben beibringen zu können. Auch der im Verhalten des Hautwiderstandes beschriebene Mg-Ca-Antagonismus könnte auf diese Weise erklärt werden, zumal dieser in Analogie zu Ergebnissen aus der Reizphysiologie steht (Schein, Riesser[36], Malorny, Ohnesorge[41] u. a.).

Wenn wir bisher bei der Besprechung unserer Ergebnisse die Wirkung der Anionen nicht berücksichtigt haben, so begründen wir dieses damit, daß die Anionen bei Untersuchungen über den Polarisationswiderstand lebender Membranen gegenüber den Kationen zurücktreten (Heubner[15], Hoeber[17]); jedoch wäre bei der eingangs beschriebenen Abweichung innerhalb der Natriumreihe, bei welcher statt der im allgemeinen gefundenen relativen Indifferenz in vier Fällen, wie oben erwähnt, eine Widerstandserhöhung gefunden wurde, ein SO_4-Effekt im Sinne einer Dehydratation der Grenzflächen entsprechend der Stellung dieses Anions innerhalb der lyotropen Reihe vorstellbar.

Zusammenfassung.

1. Es wird das Verhalten des polarisatorischen Widerstandes der menschlichen Haut nach intravenöser Verabfolgung von K_2SO_4, $MgSO_4$, Na_2SO_4 und $CaCl_2$ im Elektropermeagramm (EPG) beschrieben.

2. Nach K_2SO_4 und $MgSO_4$ wird eine über die Schwankungsbreite eines Leerversuches hinausgehende deutliche Senkung des polarisatorischen Widerstandes beobachtet, während nach $CaCl_2$ eine Widerstandserhöhung auftritt. Na_2SO_4 läßt eine relative Indifferenz erkennen.

3. Es wird eine Differenzierung des polarisatorischen Widerstandes in die Widerstände des Doppelschicht- und Konzentrationspotentials vorgenommen und die Wirkung der Elektrolytbelastung auf beide Anteile untersucht. Nach K_2SO_4, $MgSO_4$ und $CaCl_2$ erfolgt eine deutliche Einwirkung in dem unter 2. beschriebenen Sinne, und zwar mit unterschiedlicher Wirksamkeit in bezug auf beide Anteile nach K_2SO_4 und $CaCl_2$, während nach Na_2SO_4 nur eine Veränderung im Verhalten des Widerstandes des Konzentrationspotentials beobachtet wird.

4. Die Ergebnisse werden erörtert und in eine Analogie zu den Erfahrungen aus der Reizphysiologie gebracht. Es wird der Widerstand der Doppelschichtpolarisation bzw. sein Leitwert als Bezugswert für die Membranpermeabilität aufgestellt.

5. Diese Befunde wurden unter Beobachtung eines gewebsaufladenden Gleichstromes an der intakten menschlichen Haut erhoben.

Literatur.

[1] Bethe, A., u. T. Toropoff: Z. physik. Chem. **89**, 597 (1915). — [2] Beutner, R.: Die Entstehung elektr. Ströme im lebenden Gewebe. Stuttgart: Encke 1920. — [3] Black, D. A. K.: Lancet **1953**, 6755, 305; 6766, 353. — [4] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Biochem. Z. **302**, 393 (1939). — [5] Curtis, H. J., and K. S. Cole: Amer. J. Physiol. **133**, 254 (1941). — [6] Dean, R. B.: Biol. Sympos. **3**, 31 (1941). — [7] Darrow, D. C.: Zit. nach Black. — [8] Engel, R.: Dtsch. med. Wschr. **1949**, 1389. — [9] Engel, R., C. J. Martin and J. R. Taylor: Zit. nach Darrow, New Engl. J. Med. **242**, 978, 1014 (1950). — [10] Fleckenstein, A., u. A. Hardt: Klin. Wschr. **1949**, 360. — [11] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 416 (1951). — [12] Gerstner, H.: Pflügers Arch. **248**, 120 (1944). — [13] Gildemeister, M.: Pflügers Arch. **149**, 389 (1913); **195**, 112 (1922). — [14] Hansteen u. Cranner: Zit. nach Reichel u. Spiro, Hdb. norm. u. pathol. Physiol., Bd. I, 521 (1927). — [15] Heubner, W.: Persönl. Mitt. 1953. — [16] Hodgkin, A. L., and A. F. Huxley: J. of Physiol. **94**, 560 (1939). — [17] Höber, R., D. L. Hitchcock, D. R. Goddard, J. B. Bateman u. W. O. Fenn: Physikal. Chemie d. Zellen u. Gewebe. Bern: Stämpfli u. Cie 1947. — [18] Hozawa, S. J.: J. biol. Physic. **1**, 45 (1923/26); **1**, 185 (1923/26). — Pflügers Arch. **219**, 111 (1928). — Z. Biol. **92**, 373 (1932). — [19] Krause, R. A., H. Storz u. A. Voelkel: Z. exper. Med. **121**, 66 (1953). — [20] Krause, R. A., H. Storz u. A. Voelkel: Ärztl. Wschr. **1954**, 157. — [21] Krause, R. A., H. Storz u. A. Voelkel: Ärztl. Wschr. **1954**, 444. — [22] Krause, R. A.: Noch unveröffentlicht. — [23] Krüger, F.: Z. physik. Chem. **45**, 1 (1903). — [24] Kühlmayer, R.: Wien. klin. Wschr. **1951**, 537. — [25] Lullies, H.: Pflügers Arch. **221**, 296 (1928). — Hdb. biol. Arb. meth., Abt. V, Teil 5A II, Lfg. 391, 1171. — [26] Lullies, H.: Persönliche Mitteilung, 1954. — [27] Martin, C. J., u. Mitarb.: J. Amer. Med. Assoc. **147**, 24 (1951). — [28] McArdle, B., and Merton: J. of Physiol. **116**, 110 (1952). — [29] Michaelis, L.: Naturwissenschaften **14**, 33 (1926). — [30] Netter, H.: Biol. Physikochemie. Potsdam: Akad. Verl. Ges. **1951**. — Fiat Rev. **60**, 179 (1949). — [31] Netter, H.: Persönliche Mitteilung, 1954. — [32] Netter, K. J.: Naturwissenschaften **40**, 435 (1953); **40**, 436 (1953). — [33] Overton, E.: Zit. nach Höber, R. — [34] Riesser, O.: Muskelpharmakologie. Bern: Huber 1949. — [35] Schaefer, H.: Z. Biol. **94**, 11 (1933). — Elektrophysiologie, Bd. I. Wien: Deuticke 1940. — [36] Schein, H., u. O. Riesser: Z. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 436 (1935). — [37] Storz, H., u. A. Voelkel: Ärztl. Wschr. **1953**, 811. — [38] Storz, H., A. Voelkel u. R. A. Krause: Ärztl. Wschr. **1954**, 617. — [39] Ussing, H. H.: Zit. nach Stämpfli, R, 3. Colloqu. d. Ges. physiol. Chem. 1952, S. 109. Berlin: Springer 1952. — [40] Wilbrandt, W.: Erg. Physiol. **40**, 234 (1938). — [41] Malorny, G., u. F. K. Ohnesorge: Naturwissenschaften **38**, 481 (1951). — [42] Seelich, F.: Pflügers Arch. **242**, 275 (1939); **243**, 283 (1940). — [43] Seelich, F.: Erg. Physiol. **44**, 425 (1941). — [44] Stämpfli, R.: 3. Colloqu. d. Ges. physiol. Chem. 1952.

Doz. Dr. med. habil. H. Storz, Krankenhaus Hubertus, Berlin-Schlachtensee;
Dr. A. Voelkel, Nervenklinik Waldhaus, Berlin-Nikolassee.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 24—43 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Akademie für Medizinische Forschung und Fortbildung der Justus Liebig-Hochschule Gießen, z. Zt. Bad Nauheim, Kerckhoff-Institut (Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt).

Zur Frage einer pharmakodynamischen Wirkung der aus Crataegus gewonnenen Triterpensäuren (Crataegussäuren).

Von

J. Dörner und H. J. Kuschke

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Juli 1954.)

Den aus Crataegus gewonnenen Wirkstoffen von Triterpensäurecharakter (Oleanol-, Ursol- und Crataegolsäure; im folgenden zusammen als Crataegussäuren bezeichnet) kommt nach den Untersuchungen von Schimert und Schimert u. Blömer eine blutdruck- und minutenvolumenunabhängige, langanhaltende Steigerung der Coronardurchblutung zu. „Sie überschreitet zeitlich die Wirkung der meisten bisher bekannten coronarwirksamen Substanzen" (l. c.). Die Durchblutungssteigerung soll die Folge einer Herzkranzgefäßerweiterung sein. Diese hervorragendste und im Mittelpunkt des Interesses stehende Wirkungskomponente der Crataegusextrakte wird auf Grund der Arbeiten von Schimert bei Besprechung der Crataeguswirkung oder von Crataegus-präparaten besonders in den Vordergrund gestellt.

Wir haben uns von den günstigen Wirkungen der Crataegussäuren im Tierexperiment zunächst ähnlich dem Vorgehen von Schimert zu überzeugen versucht. Bald auftretende Zweifel führten dann im weiteren Verlauf der Versuche zu Ergebnissen, die eine andersartige Beurteilung der Crataegussäuren zur Folge hatten.

Methodik.

Die Versuche wurden an 20 Hunden durchgeführt, von denen ein Tier in schlechtem Allgemeinzustand intra operationem an Herzflimmern ad exitum kam. Durchschnittliches Gewicht der Tiere 12—15 kg. Narkose: 4 mg/kg Morphin i.m., $^1/_2$ Std später 0,5 cm³/kg Pernocton i.m. (10%ige wäßrige Lösung des Na-Salzes der β-bromallyl-sec. butyl-barbitursäure). Daneben Atmungsversuche an 5 Kaninchen ohne Narkose oder nur mit Morphinvorbehandlung und Versuche an einigen Meerschweinchen.

Bei 9 Hunden Durchblutungsmessung der A. coronaria dextra mit der Diathermie-Thermostromuhr nach Rein unter Verwendung wiederholt geeichter und geeigneter Elemente vom Typ A. In diesen Fällen künstliche Beatmung der Tiere mit Atempumpe. Das Atemvolumen wurde so eingestellt, daß die Tiere gerade nicht

spontan atmeten. Bei 5 Tieren wurde gleichzeitig das Durchflußvolumen in der V. cava thor. inf. und bei 8 Tieren die Durchblutung in einer A. oder V. fem. ebenfalls mit der Thermostromuhr registriert.

Bei den übrigen 10 Hunden, bei denen der Thorax nicht eröffnet wurde und die daher spontan atmeten, wurde unter Einschaltung eines Atemventils das Atemvolumen mittels Gasuhr gemessen. Die Atemwerte wurden während des Versuchs fortlaufend alle 2 min abgelesen. In einigen Versuchen wurde zusätzlich die Atmung nach Schaefer registriert. Bei 6 Hunden wurden während des Versuchs die Nn. vagi am Hals durchschnitten.

Die Änderungen der arteriellen Sauerstoffsättigung in der A. fem. wurden in 3 Versuchen fortlaufend nach Kramer in blutiger Weise registriert. Zu diesem Zweck erhielten die Tiere 2 mg/kg Heparin i.v.

In allen Versuchen Registrierung des Blutdrucks in einer A. fem. mit dem photoelektrischen Transmissionsmanometer nach Rein und des Venendrucks im re. Vorhof mit dem Wismut-Tauchspulenmanometer nach Hampel. Bei den Kaninchen wurde lediglich das Atemvolumen mit einem Krogh'schen Spirometer ermittelt.

Als Crataegussäuren verwendeten wir ein nach Angaben der herstellenden Firma[1] aus Oleanol-, Ursol- und Crataegolsäuren bestehendes Gemisch von Triterpensäuren, das entweder als freie Säure oder als Natriumsalz verabreicht wurde. Die Löslichkeitsverhältnisse ließen wie bei Schimert zunächst nur eine Anwendung in 96%igem Alkohol zu. Die Dosierung bei den Hunden betrug 0,1—2,0 mg/kg in 1—2 cm^3 Alkohol. Injektionsgeschwindigkeit $^1/_2$ min. Alle Injektionen erfolgten i.v. in eine V. fem. Bei 3 Tieren wurden zusätzlich zum Zwecke der Umgehung der Lungen Injektionen in eine V. pulmonalis, in die ein Polyaethylenschlauch eingebunden worden war, vorgenommen. In einem Versuch wurden außerdem die Crataegussäuren in die A. anonyma injiziert. Jedesmal erfolgten Kontrollinjektionen und zweimal Kontrollversuche mit 96%igem Alkohol entsprechender Menge. Die Injektionen wurden in $^1/_2$—$1^1/_2$stündigen Abständen in den meisten Fällen bis zum Exitus der Tiere fortgesetzt, der nach Verabreichung einer bestimmten, von Tier zu Tier wechselnden Dosis regelmäßig und meist plötzlich eintrat (siehe später Tab. 3). Bei 4 Hunden wurden die Crataegussäuren anders als in 96%igem Alkohol i.v. injiziert. Nähere Angaben über die Art dieser Injektionen unter den Ergebnissen.

Bei 11 Hunden, 2 Kaninchen und den Meerschweinchen wurde eine autoptische Kontrolle der Lungen, teilweise mit histologischer Untersuchung, vorgenommen.

Ergebnisse.

1. Wirkung der in 96%igem Alkohol gelösten freien Crataegussäuren.

a) Coronardurchblutung. Die Ausschlagsänderungen des Elementes an der A. coron. d. nach intravenöser Injektion der freien Crataegussäuren sind in der 2. Spalte der Tab. 1 wiedergegeben. Danach führten Dosen von 0,1 mg/kg und mitunter auch 0,5 mg/kg nur zu uncharakteristischen Änderungen, bestehend aus geringfügigen Ausschlägen in Richtung Zu- oder Abnahme der Coronardurchblutung. Typische Durchblutungskurven in der von Schimert beschriebenen und abgebildeten Form, die auf eine unter Umständen starke Mehrdurchblutung der Coronararterien hinweisen, traten bei 0,5 mg/kg und fast immer bei 1 mg/kg auf, d. h. bei ähnlichen Dosierungen, wie sie Schimert anwandte

[1] Wir danken auch hiermit der Fa. Byk-Gulden (Konstanz) herzlichst für die Überlassung der notwendigen Versuchsmengen.

(Abb. 1). Das Ausmaß der Ausschlagsänderungen war nicht nur von Tier zu Tier, sondern auch von Injektion zu Injektion sehr verschieden, wie aus Tab. 1 zu entnehmen ist. Ebenso wechselnd war die Dauer. In der Mehrzahl der Fälle ließen die Veränderungen mit der Zeit wieder etwas nach, gingen jedoch sehr oft nicht mehr auf den Ausgangswert zurück. Diese auffallende und bei anderen coronarwirksamen Substanzen ungewohnte Tatsache läßt sich auch aus sämtlichen Abbildungen der beiden Arbeiten von Schimert ersehen.

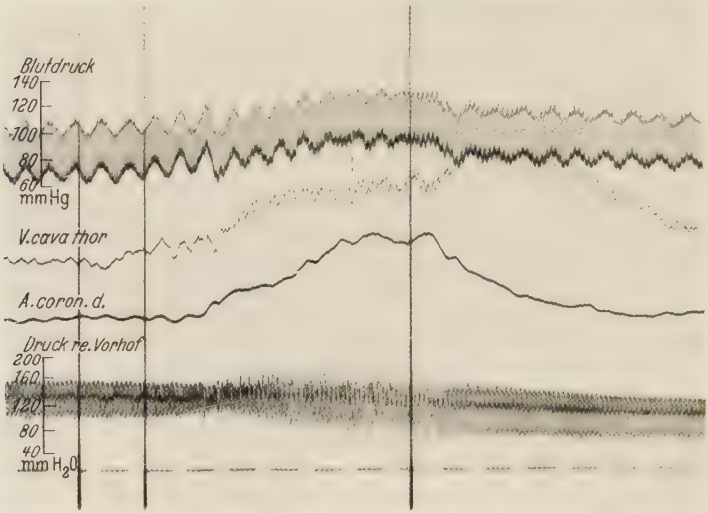


Abb. 1. Hund 10,2 kg. Künstliche Beatmung. Zeitmarkierung 20 sec. Zwischen den beiden ersten Lichtsignalen intravenöse Injektion von 1 mg/kg Crataegussäuren in 1 cm³ 96%igem Alkohol gelöst. Ausschlagsänderung der Durchblutungskurve der A. coron. d. und V. cava thor. inf. in Richtung einer Mehrdurchblutung, Blutdrucksteigerung. Starke Schwankungen des Venendrucks als Zeichen der eintretenden Spontanatmungen. Auf der Höhe der Wirkung beim 3. Lichtsignal Erhöhung des Atemhubs von 125 cm³ auf 200 cm³. Sofortiger Rückgang des Ausschlages des Elementes an der Coronararterie auf Ausgangswert, Blutdruckrückgang und Verschwinden der Venendruckschwankungen. Beachte das Parallelgehen von Spontanatmungen als Zeichen des gesteigerten Atembedürfnisses und der Veränderung der Coronardurchblutungskurve. A. coron. d.: Elem. Typ A, $x = 0{,}45$.

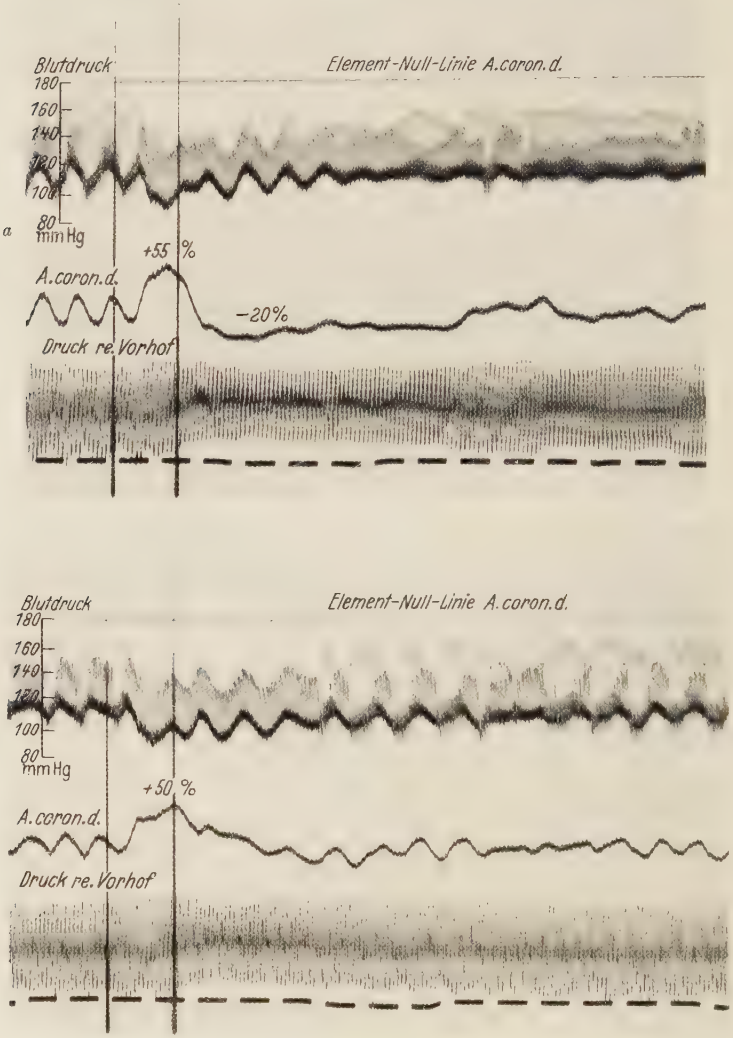
Injektion der Crataegussäuren in eine V. pulmonalis, also unter Umgehung der Lungen, ließ die bei intravenöser Injektion zu erhaltenden typischen Coronardurchblutungskurven niemals in Erscheinung treten. In diesen Fällen kam es lediglich 10—15 sec nach Injektionsbeginn zu einer kurzdauernden Durchblutungszunahme, die nach durchschnittlich 2 min wieder abgeklungen war oder in eine Minderdurchblutung überging. Die Zunahme ist hier durch den gleichzeitig mitinjizierten Alkohol bedingt, da sie nach Injektion reinen Alkohols in gleicher Weise und Form auftrat (Abb. 2a und b). Bei intravenöser Injektion wurde diese Form der Mehrdurchblutung nicht beobachtet, offenbar weil hier die die Coronararterien

Tabelle 1.

Dosis Crataegussäuren in Alkohol	freie Crataegussäuren	Na-Salz der Crataegussäuren	Alkohol
0,1 mg/kg : 1 cm³	— 8		
0,5 mg/kg : 1 cm³	— 4		
1,0 mg/kg : 1,4 cm³	+ 34		— 36
0,1 mg/kg : 1 cm³	+ 18		
0,5 mg/kg : 1 cm³	— 8		— 22
	∅		∅
1,0 mg/kg : 1,8 cm³	+ 12		+ 14
	+ 157		+ 22
	+ 69		
0,5 mg/kg : 1 cm³	+ 37		
	+ 84	+ 30	
1,0 mg/kg : 1,35 cm³	+ 37		+ 14
	+ 15		
1,15 mg/kg : 1,6 cm³	+ 22	+ 14	+ 10
1,5 mg/kg : 2 cm³	+ 190	+ 18	+ 20
0,1 mg/kg : 1 cm³	+ 10	∅	
0,5 mg/kg : 1 cm³	+ 128	+ 8	
		+ 7	
1,0 mg/kg : 1 cm³		+ 14	
		+ 38	
0,1 mg/kg : 1 cm³	— 12	∅	
0,5 mg/kg : 1 cm³	+ 20	— 15	
1,0 mg/kg : 1 cm³		— 20	
		+ 7	
1,0 mg/kg : 1,4 cm³	— 62		
0,5 mg/kg : 1 cm³	+ 134	+ 3	
1,0 mg/kg : 1,2 cm³	+ 14		
	+ 56		
1,0 mg/kg : 1 cm³	+ 23		
	+ 37		
	+ 3		
	— 45		
	— 15		
2,0 mg/kg : 1.5 cm³		+ 44	
2,0 mg/kg : 2 cm³	+ 38		
1,0 mg/kg : 1 cm³	+ 134		∅
	+ 29		+ 15
	∅		

Änderungen der Coronardurchblutungskurve nach i.v. Injektion der in 96%igem Alkohol gelösten freien Crataegussäuren, des in gleicher Weise gelösten Na-Salzes der Crataegussäuren und von reinem Alkohol entsprechender Dosis. + Ausschlag in Richtung einer Mehrdurchblutung. — = Ausschlag in Richtung einer Minderdurchblutung. Die Zahlenangaben stellen ein relatives Maß für die Ausschlagsänderungen dar, errechnet auf Grund der Elementcharakteristik und der Elementnullinie vor der Injektion (siehe Text S. 32). Werte aus 8 Versuchen.

erreichende Alkoholkonzentration nicht so hoch ist wie bei Injektion in eine V. pulmonalis (Abb. 2c und d).



Damit war nachgewiesen, daß den Crataegussäuren keine direkte herzkranzgefäßerweiternde Wirkung zukommt. Die bei intravenöser Injektion zu beobachtenden Änderungen der Durchblutungskurve in Richtung einer Mehrdurchblutung der Coronararterien mußten andere Ursachen haben.

b) Atmung. In den ersten Versuchen war aufgefallen, daß das Atemvolumen bei künstlicher Beatmung mit Atempumpe während des Ver-

suchs laufend teilweise beträchtlich erhöht werden mußte, andernfalls die Hunde spontan zu atmen versuchten. Eine nähere Beobachtung

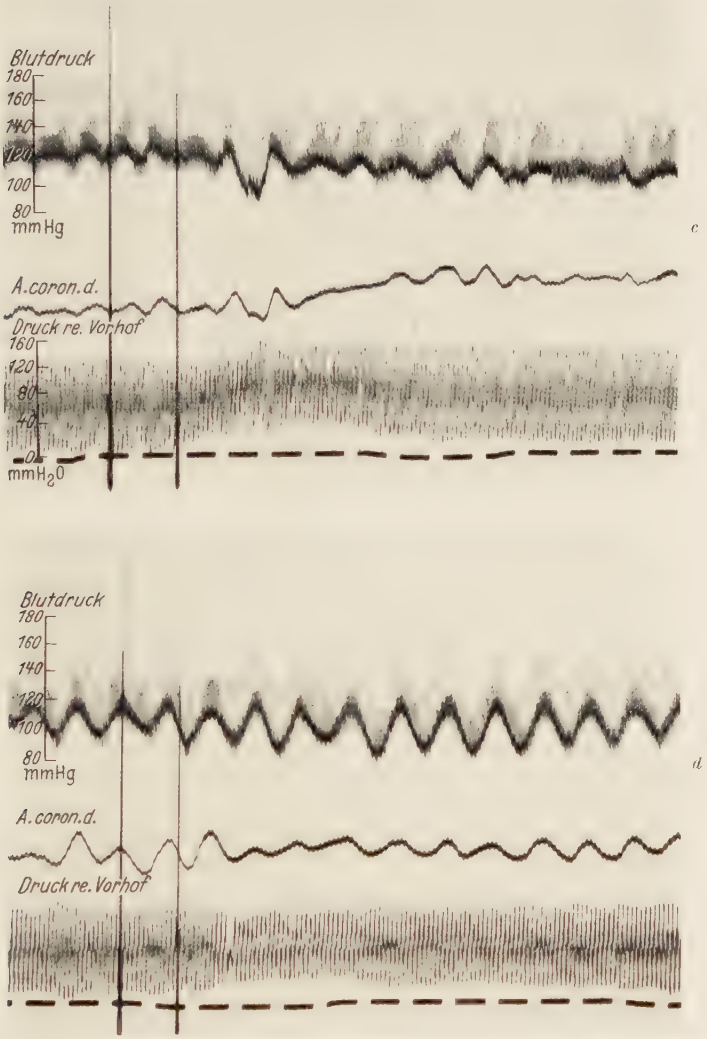


Abb. 2. Hund 15,0 kg. Künstliche Beatmung. Zeitmarkierung 20 sec. Hintereinander aufgenommene Reaktionen: *a* Injektion von 2 mg/kg des Na-Salzes der Crataegussäuren in 1,5 cm³ 96%igem Alkohol in eine V. pulm.; *b* Injektion von 1,5 cm³ 96%igem Alkohol in eine V. pulm.; *c* wie *a*, nur Injektion in V. fem.; *d* wie *b*, nur Injektion in V. fem. Bei *a* und *b* fast gleichverlaufende kurzdauernde Durchblutungszunahme der A. coron. d. als Folge der Alkoholwirkung. Keine Spontanatmungen. Bei i.v. Injektion der Crataegussäuren (*c*) typische Änderung der Durchblutungskurve der Coronararterie mit Venendruckschwankungen als Zeichen der Spontanatmungen. Bei i.v. Injektion nur von Alkohol (*d*) keine deutlichen Änderungen der registrierten Größen. Eine Spontanatmung. A. coron. d.: Elem. Typ A, $x = 0{,}45$.

ergab, daß diese Steigerung des Bedürfnisses nach einem größeren Atemvolumen immer nach Injektion von Crataegussäuren auftrat und immer mit der oben erwähnten Änderung der Coronardurchblutungskurve einherging. Die einsetzenden Spontanatmungen waren oft sehr eindrucksvoll. Sie erreichten ihr Maximum mitunter einige Minuten nach der Injektion, oft aber auch viel später. Wurde der Atemhub nicht verändert, so konnten sie in einem Teil der Fälle mit der Zeit etwas nachlassen, ohne aber ganz aufzuhören. Die Ausschläge des Elementes an der Coronararterie verhielten sich entsprechend. Wurden dagegen auf der Höhe der Atemsteigerung der Atemhub oder die Atemfrequenz in genügendem Ausmaß vergrößert, dann verschwanden in kurzer Zeit die Spontanatmungen, und die Coronardurchblutungskurve kehrte auf Ausgangsniveau zurück (Abb. 1). Diese bei künstlicher Beatmung der Tiere auftretenden Spontanatmungen ließen sich neben der direkten Beobachtung sehr deutlich aus den gleichzeitig einsetzenden Schwankungen des Venendrucks entnehmen (Abb. 1 und 2 c). Injektion der Crataegussäuren in eine V. pulmonalis oder in die A. anonyma ließ die Atmung wie auch die Coronardurchblutung unbeeinflußt. Damit war eine Wirkung über die Chemoreceptoren des Carotissinus, analog der Lobelinwirkung, auszuschließen. Der Angriffspunkt der Crataegussäuren mußte auf dem Wege von der intravenösen Injektionsstelle bis zu den Lungen liegen.

Durch direkte Messungen des Atemvolumens bei nicht künstlich beatmeten Tieren mit uneröffnetem Thorax konnten die Atemsteigerungen quantitativ erfaßt werden. Sie begannen meist bald nach der Injektion und erreichten ihr Maximum zu verschiedenen Zeitpunkten. Ausmaß und zeitliches Auftreten der stärksten Wirkung nach intravenöser Injektion der freien Crataegussäuren sind in der 2. und 3. Spalte der Tab. 2 zusammengestellt. Während am Anfang des Versuchs die Tiere ein Atemvolumen von 4—6 Liter in 2 min hatten, steigerte sich dies im Laufe des Versuchs durch die wiederholt vorgenommenen Injektionen, um gegen Ende des Versuchs teilweise Werte von 20—30 Liter und mehr zu erreichen!

Die Atemsteigerung war nach Durchschneidung der Nn. vagi am Hals in gleicher Weise vorhanden. Reflektorische Wirkungen sind damit ursächlich sehr unwahrscheinlich.

An nicht narkotisierten und nicht morphinvorbehandelten Kaninchen führten Dosen von 1 mg/kg und 4 mg/kg Crataegussäuren in 1 cm^3 96%igem Alkohol intravenös injiziert nicht zu einer mit dem Krogh'schen Spirometer meßbaren Atemsteigerung (2 Tiere). Bei dem einen der beiden Tiere wurden die Injektionen bis zum Exitus fortgesetzt, der nach der 3. Injektion von 4 mg/kg Crataegussäuren innerhalb einer Minute eintrat (über die bei diesem Kaninchen an den Lungen gefundenen Veränderungen siehe S. 38). 3 Tiere wurden mit 5 mg/kg bzw. 8 mg/kg Morphin vor-

behandelt. 2 davon zeigten nach intravenöser Injektion von 1 bzw. 2 mg/kg Crataegussäuren eine Atemsteigerung, das dritte Tier kam nach Injektion von 4 mg/kg Crataegussäuren innerhalb 6 min ad exitum.

Tabelle 2.

Dosis Crataegussäuren in Alkohol	freie Crataegussäuren		Na-Salz der Crataegussäuren		Alkohol	
	Stärke d. Atemveränderung	Zeitpunkt d. Wirkungsmaximums min	Stärke d. Atemveränderung	Zeitpunkt d. Wirkungsmaximums min	Stärke d. Atemveränderung	Zeitpunkt d. Wirkungsmaximums min
0,1 mg/kg : 1 cm³	∅		∅			
1,0 mg/kg : 1 cm³	+ 1,0	10	∅			
0,5 mg/kg : 1 cm³	— 0,2	4	+ 0,34	12		
1,0 mg/kg : 1 cm³	+ 1,46	16	+ 1,05	18		
	+ 1,02	10				
1,0 mg/kg : 1 cm³	+ 0,31	26				
2,0 mg/kg : 1,1 cm³			+ 1,4	24		
2,0 mg/kg : 1,45 cm³	+ 16,79	10				
2,0 mg/kg : 1 cm³			+ 0,92	22		
			+ 7,92	20		
2,0 mg/kg : 1,3 cm³	+ 1,28	20			∅	
	+ 2,68	40				
	+ 4,86	44			+ 1,22	18
1,0 mg/kg : 1 cm³	+ 1,32	4				
2,0 mg/kg : 1,78 cm³	+ 1,63	22			+ 1,84	16
	+ 3,15	18				
	+ 3,29	18				
2 cm³					+ 2,77	14
					— 0,91	8
					+ 5,70	32
1,7 cm³					+ 0,76	12
					— 2,17	52
					3,0	42
					21,45	14

Stärke der Atemsteigerung und Zeitpunkt des Wirkungsmaximums bei spontan atmenden Hunden mit uneröffnetem Thorax nach i.v. Injektion der in 96%igem Alkohol gelösten freien Crataegussäuren, des in gleicher Weise gelösten Na-Salzes der Crataegussäuren von reinem Alkohol entsprechender Dosis. Angabe des Atemvolumens in Litern pro 2 min. Zeitangabe in Minuten nach der Injektion. Werte aus 7 Versuchen.

c) Zusammenhänge zwischen Änderungen der Coronardurchblutungskurve und der Atmung. Das Vorhandensein eines Zusammenhangs zwischen der Steigerung des Atembedürfnisses und der Veränderung der Coronardurchblutungskurve war evident. Eine weitere Analyse ergab, daß diese Beziehungen ursächlich auf zwei Mechanismen zurückzuführen sind.

α) Es zeigte sich, daß mit dem Einsetzen von spontanen Atembewegungen und besonders zum Zeitpunkt des Wirkungsmaximums die Elementnullinie des an der A. coron. d. liegenden Elementes (d. h. der Galvanometerausschlag des nicht aufgeheizten Thermoelementes) sehr häufig die Ausgangslage nicht bewahrte, sondern sich in Richtung des oberen Papierrandes bewegte, d. h. in derselben Richtung, in der auch die Änderungen der Durchblutungskurve verliefen. Dies bedeutet, daß die Ausschlagsänderungen des Elementes an der Coronararterie, die eine

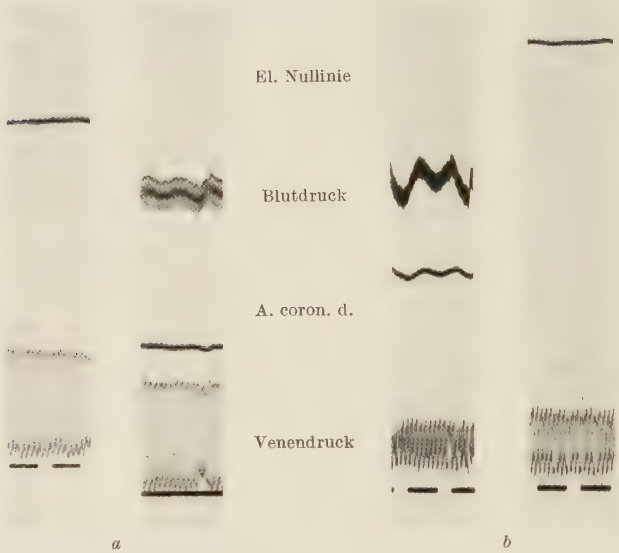


Abb. 3. Hund 15,0 kg (derselbe Versuch wie Abb. 2). Elementnullinie und Coronardurchblutung vor (*a*) und nach (*b*) i. v. Injektion von 1 cm³ 96%igem Alkohol und zweimal 1 mg/kg Crataegussäuren in je 1 cm³ 96%igem Alkohol. Die Elementnullinie und die Coronardurchblutungskurve sind nach der Injektion um den gleichen Betrag gegenüber vorher nach oben verschoben. Die scheinbare Zunahme der Coronardurchblutung stellt daher lediglich eine Pseudoreaktion dar.
A. coron. d.: Elem. Typ A, $x = 0{,}45$.

Mehrdurchblutung anzuzeigen scheinen, mindestens zum Teil lediglich die Folge einer veränderten Elementnullage sind. Sie können daher mehr oder weniger nur als Pseudoreaktionen angesehen werden, bedingt durch methodische Unzulänglichkeiten der Thermostromuhr beim Vorhandensein spontaner oder starker Atemexkursionen. In einer zur Zeit laufenden Versuchsserie konnten wir uns an über 25 Hunden davon überzeugen, daß mit dem Auftreten von Spontanatmungen eine Messung der Coronardurchblutung mit der Reinschen Methode nicht mehr möglich ist. Nach Herstellung normaler Atemverhältnisse werden die alten Ausschlagswerte wieder erreicht. Abb. 3 zeigt die Veränderung der Elementnullage nach intravenöser Injektion von Crataegussäuren und Alkohol gegenüber vorher an einem Beispiel.

β) Neben diesen methodisch bedingten Pseudoreaktionen ist eine wirkliche Zunahme der Coronardurchblutung nach intravenöser Injektion alkoholischer Crataegussäurelösungen in Betracht zu ziehen. Obwohl einige unserer Reaktionen in dieser Richtung gedeutet werden können, möchten wir eben wegen der methodischen Schwierigkeiten dazu weder in positivem noch negativem Sinn Stellung nehmen. Diese Frage ist auch nur von untergeordnetem Interesse, da nach Ausschluß einer direkten oder über Angriffspunkte im Herzen oder großen Kreislauf zustandekommenden durchblutungsfördernden Wirkung eine eventuell vorhandene Mehrdurchblutung der Coronararterien nur als direkte oder indirekte Folge der zu den Atemsteigerungen führenden Veränderungen der Lungenstruktur angesehen werden kann (siehe S. 40).

d) Arterielle Sauerstoffsättigung. Die fortlaufende blutige Registrierung der Sauerstoffsättigung nach KRAMER ergab, daß mit der Atemsteigerung der Sauerstoffgehalt des arteriellen Blutes nach Injektion von Crataegussäuren abnahm. Gegen Ende des Versuchs konnten bei maximaler Atemsteigerung so niedrige Werte erreicht werden, wie sie vergleichsweise bei Atmung eines 7% Sauerstoff und 93% Stickstoff enthaltenden Gasgemisches auftraten.

e) Durchblutung der V. cava thor. inf. Zur Information über etwaige Veränderungen des Minutenvolumens legten wir bei 5 Tieren ein Thermoelement an die V. cava thor. inf. an. Die Durchblutungskurve dieses Gefäßes zeigte nach intravenöser Injektion von 1—2 mg/kg Crataegussäuren meistens Ausschläge in Richtung einer Mehrdurchblutung (Abb. 1). Die Stärke der Veränderungen war unterschiedlich. Mitunter konnte eine kurzdauernde Durchströmungsabnahme vorausgehen. Wie die Durchströmungskurve der Coronararterie ließ auch die Durchblutungskurve der V. cava einwandfreie Beziehungen zur Atemsteigerung erkennen. Hier gelten dieselben methodischen Einwände wie gegenüber der Durchblutungsmessung an der Coronararterie.

f) Durchblutung der Extremitätengefäße. Die Beeinflussung der Extremitätendurchblutung war sehr verschieden. Neben Wirkungslosigkeit wurden reine Abnahmen, reine Zunahmen und phasische Reaktionen (primäre Abnahme mit sekundärer Zunahme) beobachtet.

g) Blutdruckwirkung. Die Veränderungen des Blutdrucks waren wechselhaft. Während oder unmittelbar nach der intravenösen Injektion kam es häufig zu einer kurz dauernden, durch den mitinjizierten Alkohol bedingten Senkung. Daran konnte sich eine Blutdrucksteigerung anschließen, die in den meisten Fällen einige bis 10 mm/Hg betrug. Teilweise fehlte die primäre Senkung (Abb. 1). Die Blutdruckerhöhung ging oft mit der Atemsteigerung einher (Abb. 1). Eine Abhängigkeit von der Versuchsdauer zeigte sich insofern, als zu Beginn der Versuche meist eine Blutdrucksteigerung im Vordergrund stand, während gegen Versuchsende

die Blutdrucksenkung stärker und länger anhaltend wurde oder keine Steigerung mehr aufkommen ließ (Abb. 2c). Bei Injektion in eine V. pulmonalis erfolgte ein vorübergehender, stärkerer, durch den Alkohol verursachter Druckabfall (Abb. 2a und b).

h) Venöser Vorhofdruck. Neben dem schon erwähnten Auftreten von Schwankungen im Venendruck als Zeichen einer gesteigerten Atemtätigkeit (Abb. 1) kam es häufig zu einer Venendrucksteigerung meist geringen Ausmaßes, die langsam zurückging (Abb. 2c). Lediglich gegen Ende des Versuchs konnte sie stärkere Grade annehmen. Die Venendrucksteigerung setzte früher ein als die Atemsteigerung. Ihr Maximum war schneller erreicht. Die Wirkungen auf Atmung und Venendruck gingen nicht parallel, jedoch wurde der Venendruck dann oft am deutlichsten beeinflußt, wenn es auch zu einer starken Atemsteigerung kam. Bei einem Teil der Injektionen blieb der venöse Vorhofdruck unbeeinflußt.

2. Wirkung des in 96%igem Alkohol gelösten Na-Salzes der Crataegussäuren.

In 9 Versuchen injizierten wir neben den freien Säuren das Na-Salz, ebenfalls in 96%igem Alkohol gelöst. Die Wirkung auf alle untersuchten Größen war qualitativ gleichartig. Quantitative Unterschiede bestanden darin, daß das Na-Salz im allgemeinen schwächer wirksam war als die freien Crataegussäuren. Dies geht deutlich aus den Werten der Tab. 1 für die Ausschlagsänderungen des Elementes an der Coronararterie hervor, während nach Tab. 2 nur bei zwei von vier Versuchen die Atmung nach Injektion der freien Säuren stärker gesteigert war als nach Injektion des Na-Salzes.

3. Alkoholwirkung.

Bei fast allen Versuchen führten wir Kontrollinjektionen mit 96%igem Alkohol durch. In vielen Fällen blieb dabei nach intravenöser Injektion die Coronardurchblutung unbeeinflußt oder nahm geringgradig ab (4. Spalte der Tab. 1). Die Abb. 2c und 2d zeigen an einem Beispiel, wie nach intravenöser Injektion von 2 mg/kg des Na-Salzes der Crataegussäuren in 1,5 cm^3 Alkohol die Coronardurchblutungskurve bei gleichzeitigem Auftreten von Spontanatmungen sich in Richtung einer Mehrdurchblutung bewegte, während anschließende Injektion derselben Menge Alkohol zu keinen deutlichen Ausschlagsänderungen führte. Ebenso traten fast keine Spontanatmungen auf. In einigen Versuchen kam es dagegen auch nach Alkoholinjektion zu einer leichten Änderung der Coronardurchblutungskurve, die aber fast immer, teilweise sogar erheblich, schwächer war als nach der entsprechenden Injektion der freien Crataegussäuren (Tab. 1).

Bei Injektion in eine V. pulmonalis bewirkte der Alkohol eine schnell einsetzende, kurz dauernde Mehrdurchblutung der Coronararterien bei gleichzeitigem Blutdruckabfall (Abb. 2a und b).

Kontrollinjektionen bei nicht künstlich beatmeten Tieren und Messung des Atemvolumens ergaben, daß die Atmung unbeeinflußt bleiben oder wie nach Crataegussäureinjektion zunehmen konnte (Tab. 2). Zwei Kontrollversuche, bei denen bei jedem Tier bis zum Exitus nur Alkohol injiziert wurde (die beiden letzten Versuche der Tab. 2), hatten zum Ergebnis, daß es nach Alkoholinjektion ebenfalls zu einer unter Umständen sehr starken Atemsteigerung kommen konnte.

Schimert und Blömer geben an, daß Injektion von 1—2 cm³ 96%-igen Alkohols keine Veränderung der Coronardurchblutung und der anderen von ihnen gemessenen Kreislaufgrößen bewirkte. Aus unseren Ergebnissen ist zu schließen, daß dies für einen Teil der Fälle zutreffen mag. Teilweise aber treten nach Alkoholinjektion qualitativ ähnliche Veränderungen im Kurvenverlauf der Coronardurchblutung und der Atmung auf, wie nach Injektion der freien Crataegussäuren oder des Na-Salzes.

4. Kumulative Wirkung.

Wir haben erwähnt, daß am Anfang der Versuche mehr eine Blutdrucksteigerung im Vordergrund stand, während es gegen Versuchsende zu ausgesprocheneren oder alleinigen Blutdrucksenkungen kam. Ebenfalls nahm im Laufe des Versuchs das Atemvolumen beständig zu, um gegen Ende teilweise Werte von 20—30 Liter pro 2 min und mehr zu erreichen. Erneute Injektion einer vorher vertragenen Dosis führte dann zum Exitus der Tiere, der in vielen Fällen innerhalb sehr kurzer Zeit nach der Injektion eintrat (vorletzte Spalte der Tab. 3). Es liegt demnach eine kumulationsartige Wirkung vor, deren Substrat in weiter unten zu beschreibenden Lungenveränderungen zu suchen ist. Ferner ist eine zentral-depressorische Wirkung des Alkohols dabei zu berücksichtigen. Ob es sich bei dieser zum Tode führenden Injektion um in Alkohol gelöste Crataegussäuren oder nur um Alkohol handelte, spielte dabei keine Rolle. Dies bedeutet, daß der mehr oder weniger plötzliche letale Ausgang der Versuche offenbar mehr die Folge einer Alkohol- als einer Crataegussäureeinwirkung ist. Dies geht auch aus einer Zusammenstellung der injizierten Gesamtmengen an freien Crataegussäuren, dem Na-Salz der Crataegussäuren und Alkohol bei den Versuchen hervor, die bis zum Exitus der Tiere fortgesetzt wurden (Tab. 3). Es zeigt sich hier eine Abhängigkeit des Versuchsendes eher von der Menge des verabreichten Alkohols als von der Dosis der Crataegussäuren. Auch die beiden Tiere, die nur Alkohol erhalten hatten, kamen nach durchschnittlich derselben Alkoholdosis ad exitum wie die übrigen Tiere. Die künstlich beatmeten Tiere haben im Durchschnitt höhere Alkoholdosen vertragen als die spontan atmenden Tiere mit uneröffnetem Thorax.

Bei den Tieren, bei denen es nach der letzten i.v. Injektion zu einem akuten Blutdruckabfall kam, setzte dieser im Durchschnitt 10 sec nach

Injektionsbeginn ein. Die vorübergehende Blutdrucksenkung bei Injektion von Alkohol in eine V. pulmonalis ereignete sich dagegen durchschnittlich 14 sec nach Injektionsbeginn. Aus unseren kreislaufanalytischen Untersuchungen mit Adrenalin und Arterenol wissen wir, daß bei i.v. Injektion und der von uns gewählten Injektionsgeschwindigkeit von $^1/_2$ min im Durchschnitt 17—18 sec nach Injektionsbeginn eine direkte

Tabelle 3.

Lfd. Nr.	Intravenöse Injektion			Injektion in V. pulmon.			Exitus let. in Minuten nach d. letzten Injektion	Spontanatmung oder kstl. Atmung
	freie Crataegussäuren mg	Na-Salz d. Crataegussäuren mg	Alkohol 96% cm^3	freie Crataegussäuren mg	Na-Salz d. Crataegussäuren mg	Alkohol 96% cm^3		
1	7,6		0,94				2,7	kstl.
2	4,2		1,14				2,7	„
3	5,65	3,15	1,32				2,0	„
4	4,6	2,6	0,9	0,7[1]		0,19[1]	0,8	„
5	4,0	0,5	0,41	1,5	6,0	0,51	8,0	„
6	10,0	2,0	1,0	1,0	2,0	0,33	6,0	„
7	3,0		0,62	1,0		0,2	6,0	„
8	2,36	1,1	0,42				1,3	spontan
9	2,5	3,5	0,5				0,7	„
10	4,0	3,0	0,6				42,0	„
11	6,0	4,0	0,93				28,0	„
12	9,0		0,82				53,0	„
13			0,5				24,0	„
14			0,65				5,0	„

[1] Die Injektion erfolgte in die A. anonyma.

Injizierte Gesamtmenge an freien Crataegussäuren, dem Na-Salz der Crataegussäuren und Alkohol bei 14 Tieren, bei denen die Versuche bis zum Exitus der Tiere fortgesetzt wurden. Alle Dosisangaben pro kg.

Herzwirkung erwartet werden kann. Daraus geht hervor, daß der plötzliche, zum Exitus führende Blutdruckabfall, dem ein Anstieg des Venendrucks nachfolgt, nicht einer direkten Einwirkung der Injektionsflüssigkeit auf Herz oder andere Stellen des großen Kreislaufs zugeschrieben werden kann. Der Wirkungsort ist auf Grund der zeitlichen Verhältnisse nur in den Lungen oder den der Lunge vorgeschalteten Teilen des Kreislaufs zu suchen.

5. Wirkung der freien Crataegussäuren bei von den bisherigen Versuchen abweichender Applikationsweise.

Bei 4 Hunden (a—d) nahmen wir die i.v. Injektionen in anderer Weise als bisher beschrieben vor.

a) 2 mg/kg Crataegussäuren in 6,6 cm^3 32%igem Alkohol i.v. (Crataegussäuren ausgefallen); Wiederholung der Injektion; 2 mg/kg Crataegussäuren in 2,2 cm^3 96%igem Alkohol i.v. Exit. let. 18 min nach der letzten Injektion. Keine Atemsteigerung. Dosis let.: 6 mg/kg Crataegussäuren und 0,4 cm^3/kg 96%iger Alkohol.

b) 3 mg/kg Crataegussäuren in 8 cm³ NaCl-Lösung aufgeschwemmt i.v., Atemsteigerung + 0,57 l/2 min; 5 mg/kg Crataegussäuren in 3 cm³ 96%igem Alkohol in 6 min i.v., Atemsteigerung + 1,3 l/2 min; 10 mg/kg Crataegussäuren in 4 cm³ 96%igem Alkohol in 7 min i.v. Exitus let. 11 min nach der letzten Injektion. Dosis let.: 18 mg/kg Crataegussäuren und 0,5 cm³/kg 96%iger Alkohol.

c) Beim 3. Hund wurden die Crataegussäuren (4,5; 9,3 und 20 mg/kg) in 0,93 cm³ Diaethylacetamid gelöst i.v. injiziert. Hier kam es sowohl nach der Crataegussäureinjektion wie auch nach der Injektion nur des Lösungsmittels zu Atemsteigerungen. Exitus let. 2,5 min nach der letzten Injektion.

d) Dem letzen Tier wurden bei einer einmaligen Injektion 4 mg/kg Crataegussäuren in 1,75 cm³ NaCl-Lösung suspendiert unter Zusatz von 0,25 cm³ n-Diaethylacetamid i.v. verabreicht. Der Tod trat 1 min nach der Injektion ein.

Besonders der letzte Versuch zeigt, daß die Crataegussäuren unabhängig von der Alkoholwirkung toxische Wirkungen zu entfalten vermögen. (Über die dabei an den Lungen gefundenen Veränderungen siehe S. 38—39.)

6. Löslichkeit der Crataegussäuren.

Wie eingangs erwähnt, sind die Crataegussäuren nur in 96%igem Alkohol und einigen Lösungsvermitttlern (z. B. Diäthylacetamid, Dimethylformamid) löslich. Zusatz geringer Mengen von Kochsalzlösung, destilliertem Wasser oder Blutserum zu den gelösten Crataegussäuren oder umgekehrt läßt letztere sofort ausfallen. Daraus ergibt sich, daß die Crataegussäuren bei i.v. Injektion im Blut sehr wahrscheinlich ausfallen.

7. Versuche an Meerschweinchen.

Da es offenbar gleichgültig ist, ob man die Crataegussäuren gelöst oder nicht gelöst injiziert, da sie im Blut ausfallen, führten wir, um eine eventuelle Wirkung des Lösungsmittels auszuschalten, i.v. Injektionen von in NaCl-Lösung suspendierten Crataegussäuren an Meerschweinchen durch. Eine solche Suspension läßt sich nicht in reiner Kochsalzlösung herstellen, sondern nur unter Zusatz geringer Mengen von z. B. n-Diäthylacetamid. Diese Versuche führten zu dem Ergebnis, daß nach fraktionierter Injektion einer von Tier zu Tier wechselnden Dosis der Crataegussäuren (20—40 mg/kg) unter sichtbarer Steigerung der Atemexkursionen und Trachealrasseln es zum Exitus der Tiere kam. Auch hier traten Lungenveränderungen auf. Ähnliche Ergebnisse finden sich bei Semm. Kontrollinjektionen mit n-Diäthylacetamid blieben ohne Wirkung.

8. Autoptische Untersuchung der Lungen.

Nachdem wir den Wirkungsort der in Alkohol gelösten Crataegussäuren bzw. des Alkohols auf die Lungen eingeschränkt hatten, nahmen wir bei 11 Hunden, 2 Kaninchen und den Meerschweinchen eine autoptische Kontrolle der Lungen, teilweise mit histologischer Untersuchung, vor.

a) Hunde und Kaninchen. Die Lungen hatten eine mehr oder weniger stark vermehrte, leicht teigige Konsistenz. Die Pleura war glatt und spiegelnd. In 8 Fällen waren subpleurale, punktförmige bis pfennigstückgroße, unregelmäßig begrenzte, teils konfluierende, dunkelrote Verfärbungen vorhanden. Die Veränderungen fanden sich am stärksten ausgeprägt im Bereich der Unterlappen, besonders des rechten.

Von der Schnittfläche ließ sich, besonders wieder im Bereich der Unterlappen, schaumige, farblos bis rötliche Flüssigkeit mit dem Messer abstreifen oder floß von selbst ab. Das Lungengewebe zeigte auf dem Schnitt dunkel rötlich verfärbte Bezirke von unregelmäßiger Ausdehnung, teils abgegrenzt, teils konfluierend. Die Bronchialschleimhaut war blaß und zart, zeigte jedoch meist einen schaumigen, blaß bis rötlich gefärbten Belag, der das Lumen kleinerer und auch größerer Bronchi häufig ganz ausfüllte. Auch hierbei fanden sich die stärksten Veränderungen in den Unter- und Mittelappen, während die Oberlappen meist frei von pathologischen Befunden waren.

Zur histologischen Untersuchung, die bei 6 Tieren durchgeführt wurde, kamen vornehmlich makroskopisch weniger stark befallene Partien. Es wurden Paraffinschnitte angefertigt und mit Haemalaun-Eosin gefärbt. Hierbei zeigte das Lungengewebe gewöhnlich einen unregelmäßigen Luftgehalt. Neben normal entfaltetem Gewebe lagen luftleere Partien, die meist sehr stark von Erythrocytenmassen durchsetzt waren. Daneben fanden sich erweiterte Lufträume, die, wie vereinzelt sichtbar, durch Einreißen von Alveolarwandungen entstanden waren. Die Erythrocytenansammlungen waren in mehr oder minder starker Ausbildung in allen Schnitten vorhanden. Vielfach waren Alveolen und Alveolargänge völlig von Blut erfüllt. Daneben fand sich in Alveolen und perivasculären Räumen blaß rosa gefärbte, homogene Flüssigkeit. Die Blutgefäße waren häufig stark mit Blut gefüllt; ihr Endothel war stellenweise abgelöst, die Kerne zeigten verringerte Färbbarkeit. In einem Fall war es zu Blutungen aus kleinen Lungenarterien gekommen; außerhalb der Media hatte sich das Blut unter Verdrängung des adventitiellen Gewebes mantelförmig ausgebreitet. An einigen Gefäßen war die partielle Zerstörung der Muscularisschicht im Schnitt getroffen. Im Bronchialbaum fanden sich in vielen Querschnitten Erythrocyten und Ödemflüssigkeit.

Die Erythrocyten wiesen teilweise deutliche Veränderungen auf, die von unscharfen Konturen bis zu völliger Zerstörung reichten. Erythrocytenansammlungen hatten häufig jede corpusculäre Struktur verloren und waren zu einer homogenen, teils scholligen Masse zusammengeflossen. Mit zunehmender Veränderung war die eosinophile Färbbarkeit verloren gegangen, und es zeigte sich eine gelb-grünliche Färbung. Diese Blutveränderungen waren auch in Schnitten von der Niere deutlich. Sie sind durch den 96%igen Alkohol verursacht. Bei Zusatz von 96%igem Alkohol zu Blutausstrichen und Färbung derselben wie die Gewebsschnitte zeigte sich das Blut in gleicher Weise verändert.

Nach allen diesen Befunden handelt es sich bei den untersuchten Lungen um diffuse Hämorrhagien und Ödeme infolge einer toxischen Gefäßschädigung.

Bei einem Hund zeigten die Lungen keine pathologischen Veränderungen; dieser hatte reine Alkoholinjektionen erhalten, darauf nur geringe Atemsteigerung gezeigt und war an Atemlähmung eingegangen. Bei 2 Tieren fanden sich nach Versuchen mit in Alkohol gelösten Crataegussäuren makroskopisch nur Lungenödem und keine Blutungen. Eine histologische Untersuchung wurde hier nicht vorgenommen. Alle anderen Tiere wiesen auch die Blutungen auf, darunter also sowohl diejenigen, die in 96%igem Alkohol gelöste Crataegussäuren als auch ein Tier, das nur Alkohol erhalten hatte. In gleicher Weise waren die Tiere betroffen, bei welchen wir die

Substanz in anderer Weise entsprechend unserer Beschreibung unter 5) appliziert hatten, insbesondere auch das Tier unter 5d). Die Befunde bei diesen letzteren unterschieden sich in Stärke und Ausdehnung nicht von denen der anderen Tiere.

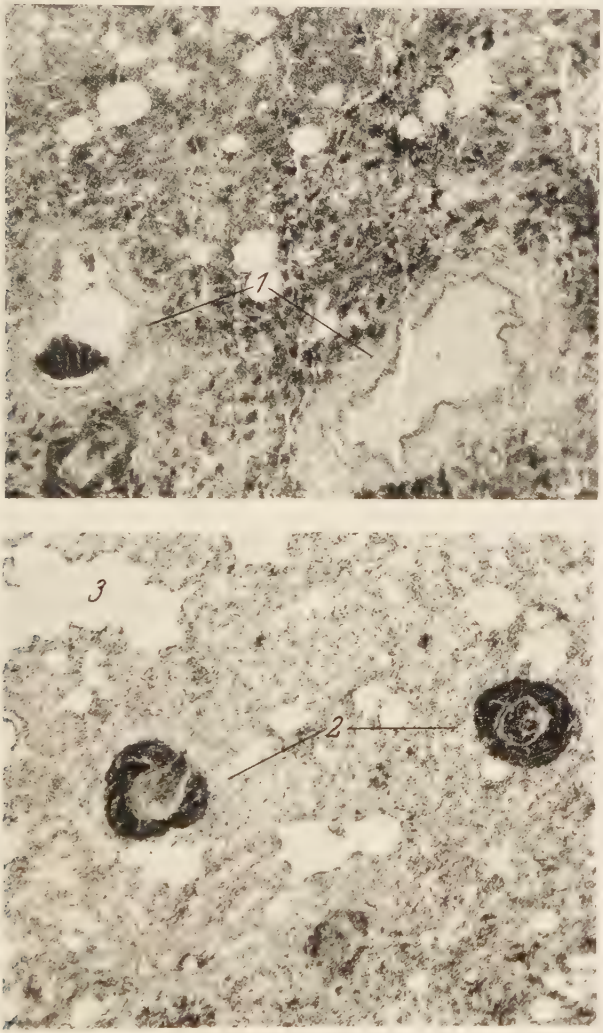


Abb. 4. Histologischer Lungenbefund eines Hundes, der nach einer Gesamtdosis von 9 mg/kg Crataegussäuren in 10 cm³ 96%igem Alkohol ad exitum gekommen ist. — Alveolen großenteils von Erythrocytenmassen und Ödem ausgefüllt. Bronchi enthalten ebenfalls Erythrocyten und Ödemflüssigkeit (*1*). Um kleine Arterien mantelförmige Blutungen (*2*). Erweiterter Alveolarraum (*3*). Vergrößerung 80 ×.

b) Meerschweinchen. Bei den Versuchen mit Meerschweinchen, die lediglich Crataegussäuren in Suspension unter geringem Zusatz von n-Diaethylacetamid erhalten hatten, wiesen die Lungen ebenfalls subpleural und auf dem Schnitt

mehrere, gegen das normale hellrote Gewebe deutlich dunkler rot gefärbte Bezirke auf, die wohl als Hämorrhagien angesehen werden können. Ähnliche Veränderungen konnten auch bei in anderer Weise getöteten Tieren beobachtet werden, so daß wir daraus keine Folgerungen zu ziehen imstande sind. Eine histologische Untersuchung wurde hier nicht durchgeführt. Deutlich zeigte sich dagegen bei den Tieren, die Crataegussäuren erhalten hatten, ein Lungenödem, das wir bei den Kontrolltieren nicht fanden.

Besprechung der Ergebnisse.

Die aus vorstehenden Ergebnissen resultierenden Folgerungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die Versuche mit Injektion der Crataegussäuren in eine V. pulmonalis zeigen, daß den Crataegussäuren keine direkte coronargefäßerweiternde Wirkung zukommt. Ebenso scheidet eine eventuelle durchblutungsfördernde Wirkung auf die Coronararterien aus, die, reflektorisch bedingt, vom Herzen oder irgendwelchen Stellen des großen Kreislaufs ihren Ausgang nähme.

2. Im Mittelpunkt des ganzen Wirkungsbildes bei i.v. Injektion der in Alkohol gelösten Crataegussäuren stehen die Veränderungen der Atmung und die autoptisch feststellbaren Lungenschädigungen. Die Atemsteigerung ist nicht reflektorischer Natur, sondern die Folge einer Behinderung des Gasaustausches in der Lunge (Vagusdurchschneidung, art. O_2-Sättigung, autoptische Lungenbefunde). Ursächlich kann diese Diffusionseinschränkung auf eine Wirkung des Lösungsmittels, der Crataegussäuren oder beider zusammen zurückgeführt werden.

Unsere Kontrollversuche mit reinem Alkohol zeigen, daß der Alkohol allein zweifelsohne Veränderungen der Lungenstruktur bewirken kann, die zu entsprechenden Atemsteigerungen führen. Die gewebsschädigende und hämolysierende Wirkung des Alkohols ist bekannt. Toxische Schädigungen der Lungen sind bei Mensch und Tier nach peroraler Aufnahme beschrieben worden (Regus; Stillmann u. Branch). Auf der anderen Seite können die beschriebenen Lungenveränderungen nicht allein auf eine Alkoholwirkung zurückgeführt werden, da sie auch bei den Tieren auftraten, bei denen die Crataegussäuren nicht mit 96%igem Alkohol injiziert wurden, wie z. B. bei dem unter 5d) erwähnten Versuch und den Meerschweinchen. Darüber hinaus waren die häufig vorgenommenen Kontrollinjektionen mit 96%igem Alkohol gegenüber den Crataegussäureinjektionen sehr oft ohne Wirkung oder bedeutend schwächer wirksam, verglichen an den Veränderungen der Coronardurchblutungskurve.

Es darf somit geschlossen werden, daß die intra vitam zu beobachtenden Atemsteigerungen und die autoptisch feststellbaren Lungenschädigungen die Folgen einer Alkoholwirkung wie auch einer Wirkung der Crataegussäuren auf die Lungenstruktur sind. Bei den Crataegussäuren ist an eine direkt toxische Wirkung wie auch an eine mechanische Wirkung infolge Embolisierung der kleinsten Blutgefäße durch

die ausgefallenen Crataegussäuren zu denken. Eine nähere Analyse lag außerhalb unserer Fragestellung.

3. Die bei Verwendung der Reinschen Methode in der Durchblutungskurve der Coronararterie sich zeigende langanhaltende Ausschlagsänderung in Richtung einer Mehrdurchblutung entspricht mindestens zum Teil keiner Zunahme der Coronardurchblutung, sondern stellt eine Pseudoreaktion dar, bedingt durch methodische Unzulänglichkeiten der Thermostromuhrmethode beim Auftreten spontaner Atembewegungen künstlich beatmeter Tiere. Das gleiche gilt für Tiere, denen der Thorax nach Anlegung des Thermoelementes wieder verschlossen und der Pneumothorax teilweise abgesaugt wird und die daher ohne Atempumpe atmen. Solche Tiere können das gesteigerte Atembedürfnis nach intravenöser Injektion alkoholischer Crataegussäurelösungen zunächst nur unter Steigerung der Atemexkursionen oder der Atemfrequenz befriedigen, bis sie schließlich mehr oder weniger schnell ateminsuffizient werden, da sie nicht imstande sind, Atemvolumina von 20—30 Liter/2min und mehr zu bewältigen, wie wir sie bei Tieren mit uneröffnetem Thorax beobachteten. Auch hier müssen zunächst einmal Veränderungen der Elementnullage ausgeschlossen werden, bevor Änderungen der Durchblutungskurve auf eine Zunahme der Coronardurchblutung zurückgeführt werden. Wird dem gesteigerten Atembedürfnis durch Erhöhung des Atemhubs oder der Atemfrequenz nicht Rechnung getragen, dann gehen die Veränderungen der Elementnullage und der Coronardurchblutungskurve nicht mehr auf den Ausgangswert zurück und täuschen eine langanhaltende Steigerung der Coronardurchblutung vor. So erreichen in sämtlichen Abbildungen der beiden diesbezüglichen Schimertschen Arbeiten die Ausschläge nicht mehr den Ausgangswert. Wird das Atembedürfnis befriedigt, so gehen, wie wir gezeigt haben, die Elementausschläge in kürzester Zeit auf das Ausgangsniveau zurück.

Erkennt man trotz dieser Tatsachen eine gewisse durchblutungsfördernde Wirkung der alkoholischen Crataegussäurelösungen bei i.v. Injektion an, eine Entscheidung, zu der wir weder in dem einen noch anderen Sinn Stellung nehmen möchten, dann handelt es sich bei einer solchen Wirkung, da wir andere Möglichkeiten experimentell ausgeschlossen haben, lediglich um die direkte oder indirekte Folge der mit den toxischen Wirkungen des Alkohols und der Crataegussäuren auf die Lungen einhergehenden Veränderungen der Lungenstruktur und der damit verbundenen Steigerung des Atembedürfnisses. Insofern ist diese Frage hinsichtlich des Wirkungscharakters der Crataegussäuren von ganz untergeordneter Bedeutung. Zu denken ist dabei an eine zentrale Wirkung, deren Ursachen in einer durch die Atemveränderungen bedingten Umstellung der Herz- und Kreislauftätigkeit zu suchen wären. Solche Beziehungen sind bekannt. Die Blutdruckänderungen sprechen

in diesem Sinne. Auch ist eine direkt dilatierende Komponente, bedingt durch eine Hypoxämie des Blutes, zu berücksichtigen. Damit entfallen auch alle Versuche, eine eventuell vorhandene Mehrdurchblutung der Coronararterien auf eine günstige Wirkung der Crataegussäuren auf den Stoffwechsel des Herzens selbst zurückführen zu wollen (Ullsperger).

4. Die von Semm tierexperimentell festgestellte Steigerung der Wirkung aller Herzglykoside durch alkoholische Crataegusextrakte kann nicht im Sinn einer echten synergistischen Wirkung beider Stoffe am Herzen angesehen werden. Die am Meerschweinchen zu beobachtende Erhöhung der Digitalistoxicität ist lediglich als die Folge der toxischen Wirkungen des 45%igen alkoholischen Crataegusextraktes zu werten, wodurch die Dosis letalis einer gleichzeitigen oder nachfolgenden Glykosiddauerinfusion herabgesetzt werden muß. Die in höchstem Maße toxische Wirkung des Crataegusextraktes selbst ergibt sich aus den Versuchen Semms ohne weiteres. Nach dem gleichen Autor wird die Digitalistoxicität am Frosch dagegen nicht erhöht, was verständlich ist, da beim Frosch nicht nur toxische Wirkungen auf die Lungen im akuten Versuch unerhebliche Folgen quoad vitam haben, sondern auch, weil die Crataegussäuren bei Injektion in einen Lymphsack sehr wahrscheinlich ausfallen und daher nicht resorbiert werden.

5. Wir konnten unter Wertung aller in unseren Versuchen registrierten Kreislaufgrößen keine Wirkungen der Crataegussäuren feststellen, die nicht als die Folge einer Alkoholwirkung oder toxischen Lungenwirkung aufzufassen sind oder Pseudoreaktionen infolge methodischer Unzulänglichkeiten darstellen. Berücksichtigt man ferner die sehr schwere Lösbarkeit der Crataegussäuren, die bedingt, daß diese im Blut vermutlich ausfallen, so erscheint uns eine pharmacodynamische Wirkung der Crataegussäuren, die nicht als die Folge der beschriebenen toxischen aufzufassen ist oder mit ihr in Zusammenhang steht, für wenig wahrscheinlich, zumindest bisher als nicht bewiesen.

Zusammenfassung.

In Versuchen an Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen wurde festgestellt, daß den aus Crataegus gewonnenen Triterpensäuren (Crataegussäuren) die nach Schimert direkt coronargefäßerweiternde Wirkung *nicht* zukommt. Im Mittelpunkt des Wirkungsbildes der in 96%igem Alkohol gelösten Crataegussäuren stehen ausgeprägte toxische Schädigungen der Lungen, sowohl durch den Alkohol als auch durch die im Blut ausfallenden Crataegussäuren bedingt. Alle Veränderungen der von uns registrierten Größen einschließlich der Coronardurchblutung sind lediglich die Folge der durch die Lungenschädigung hervorgerufenen Atem- und Kreislaufumstellung. Eine pharmacodynamische Wirkung der Crataegussäuren, die nicht als die Folge der beschriebenen toxischen aufzufassen ist, sehen wir als bisher unbewiesen an.

Literatur.

Regus, F.: Akute Alkoholvergiftung mit Todesfolge. Slg. Vergiftungsfälle **8**, 119 (1937). — Schimert, G., jr.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Crataegus oxyacantha auf die Durchblutung und die Dynamik des Herzens. Z. exper. Med. **113**, 113 (1944). — Schimert, G., u. H. Blömer: Beitrag zur Pharmakologie der Crataegus-Wirkstoffe. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 337 (1953). — Semm, K.: Die Wirkung von Crataegus für sich und ihre Verbindung mit Digitalis purpurea, Digitalis lanata, Adonis vernalis und Convallaria majalis auf das Herz des Meerschweinchens. Arzneimittel-Forsch. **2**, 562 (1952). — Stillman, E. G., u. A. Branch: Experimental production of pneumococcus pneumonia in mice by the inhalation method. J. of Exper. Med. **40**, 733 (1924); zit. nach Henke, F., u. O. Lubarsch: Handb. spez. pathol. Anat. u. Histol. **10**, 277 (1930). — Ullsperger, R.: Beitrag zur Wirkungsweise von Wirkstoffen aus Weißdorn. Pharmazie **7**, 211 (1952). — Über die Bedeutung des Milchsäurespiegels im Blut unter Einfluß von Crataegus, Digitalis und Strophanthin. Pharmazie **9**, 330 (1954).

Dozent Dr. med. J. Dörner,
z. Zt. Harvard Medical School, Dept. of Pharmacol. Boston, Mass.
Dr. med. H. J. Kuschke, Pharmakol. Institut d. Med. Akad. Gießen,
z. Zt. Bad Nauheim, Kerckhoff-Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 44—47 (1955).

Aus dem Institut für Pathophysiologie der Tierärztlichen Fakultät in Sarajevo.

Der Acetylcholingehalt in der Kuhmilch.

Von

S. Begović und E. Maglajlić.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 3. August 1954.)

In der uns zugänglichen Literatur haben wir über den Befund von Acetylcholin (ACh) in der Kuhmilch noch keine Angaben gefunden.

Müller beschrieb 1925 den Befund von Cholin in der Milch, Keil u. Kritter bestätigten dies 1934, indem sie den ACh-, Histamin (H)- und Cholingehalt in der sauren Milch untersuchten und nach 8tägiger Säuerung der Milch nur Cholin fanden.

Interessant ist es, daß Keil u. Kritter während der Milchsäuerung eine ACh-Synthese erwarteten, doch einen ACh-Gehalt in der frischen Milch nicht voraussetzten. Daher stammen auch ihre negativen Resultate, weil ACh durch das Abstehen der Milch zerstört wurde, ebenso wie das H, das deshalb auch nicht gefunden werden konnte. Asdrubali fand in der Kuhmilch einen H-Gehalt von 0,07 γ/cm^3. Gaddum, Guggenheim u. Minz haben den ACh-Gehalt verschiedener Organe und Körpersäfte angegeben, doch ein Vorkommen des ACh in der Milch nicht erwähnt.

Nach Arbeiten, die noch im Gange sind, findet sich ACh in der Frauenmilch (Huković u. Hadžić) und in der Milch von Sauen; auch ist es in der Milch anderer Haustiere zu erwarten, obwohl bei diesen die Aktivität der Cholinesterase (Che) beträchtlich stärker als beim Rind ist. Nach D. Mitrović ist die Aktivität der Che in der Kuhmilch sehr schwach. Wenn einer ACh-Lösung der Konzentration 10^{-7} Kuhmilch hinzugefügt wird, ändert sich nach 120 min die Aktivität des ACh nicht, so daß eine solche Lösung am isolierten Froschherzen den gleichen Effekt wie die Kontrolle hervorruft.

Da die Aktivität der Che in der Kuhmilch sehr schwach ist, kann ACh in der Kuhmilch auch nach längerem Abstehen, wie auch in der Trockenmilch nachgewiesen werden; durch Trocknen der Milch wird das termostabile ACh nicht zerstört.

Bei dem ACh-Nachweis in der Milch bedienten wir uns der spezifischen biologischen Methode, des eserinisierten entnervten Präparats der Dorsalmuskulatur des Blutegels (Hirudo medicinalis), genau nach der Methode von Minz. Um die ACh-Mengen quantitativ genau bestimmen zu können, wendeten wir noch zwei nichtspezifische Methoden an, nämlich das nach Straub isolierte Froschherz und die Blutdruckmessung an der Katze.

In der Erwartung eines größeren ACh-Gehalts in der Trockenmilch führten wir die ersten Versuche mit dieser durch[1].

[1] Produkt der Fabrik „Osijek".

2 g trockener Vollmilch wurde in 100 cm³ RINGER-Lösung für Kaltblüter aufgeschwemmt. In diese Emulsion tauchten wir das ausgeruhte Blutegelpräparat, wobei wir gar keine Kontraktionen beobachten konnten.

Wurde das Präparat jedoch 30 min in einer 10^{-5} Eserin enthaltenden RINGER-Lösung gehalten, so hatte das Eintauchen in die Emulsion eine starke Kontraktion zur Folge.

Durch Vergleich mit Acetylcholin-Lösungen wurde festgestellt, daß eine 2%ige Trockenmilch enthaltende RINGER-Lösung einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-8}$ entsprach, was einer Menge von 1 γ ACh in 1 g Trockenmilch entsprechen würde.

Bei der Prüfung am Blutdruck in der art. carotis communis der Katze wurde Chloralose (70 mg/kg) und Heparin verabreicht. Das ACh extrahierten wir aus der Trockenmilch nach dem von ENGELHARDT beschriebenen Verfahren: 5 g Trockenmilch wurden in n/100 salzsaurem Alkohol aufgeschwemmt. Nach Filtration wurde der Alkohol im Wasserbad bei 90° C verdampft, der trockene Rest in Äther gereinigt und abermals in n/100 salzsaurem Alkohol gelöst. Nach Verdampfung des Alkohols wurde der Rest in 5 cm³ RINGER-Lösung aufgelöst.

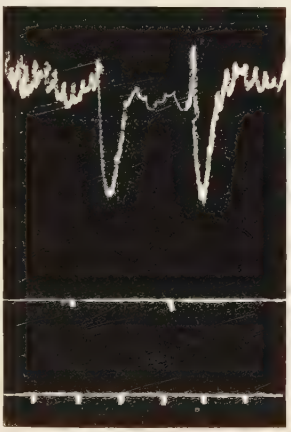


Abb. 1. Blutdruckregistrierung bei einer Katze, ♀, 3100 g. Urethan-Chloralose-Narkose 70mg/kg. Oben: *1* = 0,25 cm³ Extrakt aus 5 g Trockenmilch, gelöst in 5 cm³ RINGER-Lösung, i.v. *2* = 0,25 cm³ ACh 10^{-6}. Unten: Zeit in Minuten.

0,25 cm³ ACh 10^{-6} setzte eine ebensolche Blutdrucksenkung wie 0,25 cm³ Trockenmilchextrakt, was wiederum einer Menge von 1 γ ACh in 1 g Trockenmilch entspricht (Abb. 1).

Bei der Prüfung der Hemmung am isolierten Froschherzen zeigten eine ACh-Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-8}$ und eine 2%ige Trockenmilch enthaltende RINGER-Lösung den gleichen Effekt. Nach diesem Befund würde die Konzentration des ACh in 1 g Trockenmilch 1,25 γ betragen.

Zur Prüfung der Frage, ob die Kontraktion des Blutegelpräparates nicht durch die Anwesenheit der Kaliumsalze der Milch hervorgerufen war, wurden 5 g Trockenmilch verbrannt und die Asche in 100 cm³ RINGER gelöst. Diese Lösung konnte jedoch am Blutegelpräparat weder vor noch nach der Eserinisierung eine Kontraktion hervorrufen.

Bei der Bestimmung des ACh-Gehaltes der *frischen* Kuhmilch wurde festgestellt, daß in 1 cm³ Frischmilch sich 0,1 γ ACh befindet, also in 10mal schwächerer Konzentration als in der Trockenmilch. Bei diesen Versuchen haben wir die Milch mit RINGER-Lösung im Verhältnis 1 : 1 verdünnt. Diese Mischung konnte vor der Eserinisierung des Präparats keine Kontraktion hervorrufen, dagegen nachher. Den gleichen Effekt

erhielten wir bei der Anwendung eines mit n/100 salzsaurem Alkohol hergestellten Frischmilchextraktes.

Der Gehalt von 0,1 γ ACh im cm^3 frischer Kuhmilch stellt eine beträchtliche Menge dar. Vorausgesetzt, daß das Kalb bei einmaligem Säugen oder Tränken 1 Liter Milch in den Abomasus einnimmt, bringt es etwa 100 γ ACh in ein saures Milieu. Die ACh-Zerstörung verlangsamt sich dadurch trotz anwesender Che, insbesondere dann, wenn die Aktivität der Che im Kalbspeichel so schwach ist wie im Serum. Bei ausschließlicher Milchernährung wird die ACh-Konzentration im Mageninhalt anfangs 10^{-7} ausmachen. Ein so hoher ACh-Gehalt ist im Organismus nicht frei zu finden, da schon viel kleinere Mengen genügen, um ein Überhandnehmen des Tonus des cholinergischen Systems hervorzurufen. Wir haben vorläufig noch keine Angaben darüber, ob ACh im Abomasus zerstört wird. Nach Angaben von Guggenheim enthält der Magensaft bei Mensch und Hund kleine Mengen ACh, was gegen eine Zerstörung des ACh im Magen sprechen würde. Der größte Teil der ACh-Zerstörung würde sich im Zwölffingerdarm abspielen, weil im alkalischen Milieu die Stabilität des ACh beträchtlich herabgesetzt und die Wirksamkeit der Che gefördert wird.

Eine toxische Wirkung des ACh kommt bei peroraler Einnahme überhaupt nicht in Frage. Nach den Angaben von Justin-Bezançon bleibt eine dem Menschen peroral verabreichte Menge von 2 g ACh ohne toxische Wirkung.

Was den Einfluß des ACh auf die Magensekretion betrifft, so fanden Gebhardt u. Klein, daß es die Wasser- und Säuresekretion im Menschenmagen erhöht, jedoch schwächer als H. Ob nun das mit der Milch peroral in den Kalbsmagen eingeführte ACh den gleichen Effekt hat, und ob dies vielleicht der Hauptgrund ist, daß der Befund von ulcus ventriculi bei Kälbern öfters als bei Fohlen und anderen Tierarten, bei welchen die Che des Serums aktiviert ist, erhoben werden kann, sollte experimentell geprüft werden. Auch der Einfluß des in der Milch eingenommenen ACh auf die Motilität des Magens und die Darmperistaltik sollte nicht unterschätzt werden. Hier sei an die Versuche Kahlsons erinnert, der am isolierten Meerschweinchendarm beobachten konnte, daß er eine wesentlich stärkere Empfindlichkeit gegen ACh zeigte, wenn sich die Resorption in der Richtung von Mucose zur Serose vollzog, als wenn dies umgekehrt der Fall war. Es ist schwer zu sagen, ob sich diese Versuche auch in bezug auf die Wirkung des ACh auf den Darm in vivo verallgemeinern lassen.

Zusammenfassung.

1 cm^3 frischer Kuhmilch enthält 0,1 γ, 1 g trockener Vollmilch 1 γ Acetylcholin.

Literatur.

[1] Asdrubali, M.: Zooprofilasse **5**, 385 (1950). — [2] Engelhardt, E.: Zit. nach Gaddum. — [3] Gaddum, J.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig: Georg Thieme 1936. — [4] Gebhardt u. Klein: Zit. nach Gaddum. — [5] Guggenheim, M.: Die biogenen Amine. Basel: S. Karger, New York 1940. — [6] Hadjić, I., u. S. Huković: Im Druck. — [7] Justin-Besancon: Zit. nach Gaddum. — [8] Kahlson, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **167**, 84 (1932). — [9] Keil, W., u. H. Kritter: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **175**, 736 (1934). — [10] Minz, B.: La transmission chimique de l'enflux nerveux. Editions medicales Flammarion 1947. — [11] Mitrović, D.: Im Druck. — [12] Müller, H.: Zit. nach Kahlson und Guggenheim.

Dr. S. Begović, Institut f. Pathophysiologie d. Tierärztl. Fakultät, Sarajevo, Jugoslavien.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 48—54 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Einfluß von Sympathicolytica auf die Kälteresistenz.

Von
Wolfgang Schaumann.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 6. August 1954.)

In einer früheren Arbeit fanden Jarisch und Schaumann bei Mäusen mit gesteigerter Kälteresistenz (KR) einen erhöhten Adrenalingehalt der Nebennieren. Denselben Befund erhoben zur selben Zeit DesMarais und Dugal. In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, mit Hilfe von Sympathicolytica der Frage der Bedeutung des Adrenalins für die KR näher zu kommen. Dazu wurden N,N-Dibenzyl-β-chloräthylamin (Dibenamin), Dihydroergotamin (DHE) und N-(3-Dimethylamino)-propyl-3-chlorphenothiazin (Megaphen) ausgesucht.

Methoden.

Steigerung der Kälteresistenz (KR). Jarisch u. Schaumann erzeugten eine erhöhte KR durch eine einmalige Abkühlung im kalten Bad bis auf 15° Rectaltemperatur. Als Versuchstiere dienten damals Mäuse von 11—22 g; bei der Wiederholung dieses Verfahrens stellte es sich heraus, daß die ausgewachsenen Tiere von 21—35 g, die diesmal zur Verwendung kamen, diese Belastung nicht vertrugen. Daher wurden die Mäuse wie in Versuchen von Fregly und von Gilson 1 Woche lang bei 5° Stalltemperatur gehalten, wobei ebenfalls Adrenalingehalt der Nebennieren[6] und KR ansteigen.

Zur *Prüfung der KR* kamen die Tiere in einen engen zylindrischen Behälter, der oben und unten durch ein Drahtgitter verschlossen war. Bei 5° C wurden sie von unten mit einem Luftstrom konstanter Geschwindigkeit angeblasen. Alle 30 min wurde die Rectaltemperatur gemessen.

Dibenamin wurde 30 min vor Versuchsbeginn i.v. gegeben, dazu, wie bei den Kontrollen, physiologische NaCl-Lösung i.p.; bei den anderen Tieren DHE bzw. Megaphen kurz vor Beginn der Abkühlung i.p.

Zur *Messung des Stoffwechsels* wurden die Mäuse bei 20—22° Raumtemperatur gehalten und mit Körnern und Milch ad libitum gefüttert. Vor jedem Versuch wurden sie mindestens 6 Std nüchtern gesetzt. Injektionen wie oben beschrieben; Adrenalin (Suprarenin Hoechst) wurde kurz vor Versuchsbeginn s.c. gegeben. Wegen der kurzen Wirkungsdauer des DHE wurde der O_2-Verbrauch unter seiner Einwirkung in der Wärme und in der Kälte in getrennten Versuchen gemessen. Der O_2-Verbrauch wurde in einem Krogh'schen Spirometer bestimmt. Die Luft aus dem Behälter für das Versuchstier wurde durch eine Membranpumpe in konstantem Strom über $CaCl_2$ und durch NaOH zur Absorption von Wasser und CO_2 geleitet. Die Maus befand sich in sauerstoffreicher Atmosphäre in einem verdunkelten Glaszylinder, der wechselweise mit warmem und kaltem Wasser berieselt werden konnte.

Ein eingebautes Thermometer erlaubte die Konstanz der jeweils erreichten Versuchstemperatur zu kontrollieren. Die Werte der ersten ½ Std wurden verworfen, danach der durchschnittliche O_2-Verbrauch/Stunde bei 28° ermittelt. Nach 1 Std wurde die Versuchstemperatur auf 14—20° herabgesetzt und der O_2-Verbrauch erneut bestimmt, sobald nach 6—8 min die Temperatur wieder konstant geworden war. Nach 45 min in der Kälte wurde der Versuch beendet.

Ergebnisse.

Die *Änderung der Abkühlungsgeschwindigkeit* unter dem Einfluß der geprüften Stoffe ist am besten aus Abb. 1 a—c zu ersehen. Die Werte, die den Diagrammen zugrunde liegen, wurden als Durchschnitt aus Gruppen von 7—12 Tieren errechnet. Die Streuung der Ergebnisse und die Zufallswahrscheinlichkeit P der gefundenen Temperaturunterschiede gehen aus Tab. 1 hervor. ΔT_{90} bedeutet die Abnahme der Rectaltemperatur nach 90 min Versuchsdauer. Später mußten einige besonders rasch

Tabelle 1.

	Behandlung	ΔT_{90} ° C	P
Bei 25° gehalten	Kontrollen	10,5 ± 2,5	—
	Dibenamin 10 mg/kg	22,0 ± 1,675	<0,01
	Megaphen 2 mg/kg	16,5 ± 2,9	0,2
1 Woche bei 5° Stall-temperatur gehalten	Adaptierte Mäuse	2,0 ± 0,38	—
	Dibenamin 5 mg/kg	3,5 ± 0,9	0,2
	Dibenamin 10 mg/kg	15,0 ± 3,22	<0,01
	DHE 1 mg/kg	2,5 ± 1,02	0,7
	DHE 2 mg/kg	3,5 ± 1,055	0,2
	Megaphen 2 mg/kg	6,0 ± 1,54	<0,05
	Megaphen 5 mg/kg	16,5 ± 1,69	≪0,01

auskühlende Tiere bereits aus dem Versuch genommen werden, die dann nicht mehr in die Berechnung hätten einbezogen werden können. Zur Zeichnung der Kurven in Abb. 1 wurde bei diesen Tieren die gefundene Abkühlungsgeschwindigkeit bis auf die Außentemperatur extrapoliert; der Verlauf der Kurven zeigte sich dadurch nicht wesentlicht beeinflußt.

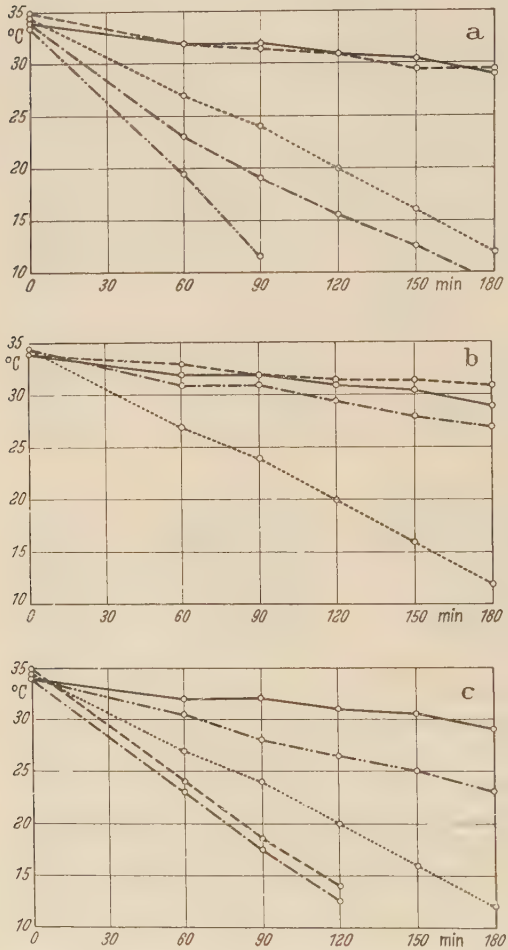
10 mg/kg Dibenamin und bei den adaptierten Mäusen bereits 2 mg/kg Megaphen verursachen eine signifikante Beschleunigung der Abkühlung. DHE ist dagegen selbst in der hohen Dosis von 2 mg/kg unwirksam, desgleichen auch 5 mg/kg Dibenamin.

Die niedere Ausgangstemperatur wurde durch die Versuchsbedingungen erklärt. Alle Messungen wurden in einem Raum von 5° durchgeführt und das Thermometer bis zu einer Marke eingeschoben, so daß die gemessene Rectaltemperatur unter der Kerntemperatur liegt. Dazu kommt eine Abkühlung durch das eingeführte kalte Thermometer. Die Schwankung der Meßwerte wurde kontrolliert und betrug ± 0,5°.

Bei den bei 25° C gehaltenen Kontrolltieren war, wie in Versuchen von Fregly, die KR nach ein- bis zweimaliger Abkühlung im Luftstrom wie

bei den in der Kälte gehaltenen erhöht; die Tiere konnten nur einmal als Kontrolle verwendet werden.

Da sich der Organismus gegen den Einfluß der Kälte auch durch eine *Erhöhung des O_2-Verbrauches* zur Wehr setzt, war der Einfluß von



a Dibenamin.
Nicht adaptierte Mäuse:
····· Kontrollen
—··— 10 mg/kg Dibenamin
Adaptierte Mäuse:
——— Kontrollen
— — — 5 mg/kg Dibenamin
—·—· 10 mg/kg Dibenamin

b DHE.
Nicht adaptierte Mäuse:
····· Kontrollen
Adaptierte Mäuse:
——— Kontrollen
— — — 1 mg/kg DHE
—·—· 2 mg/kg DHE

c Megaphen.
Nicht adaptierte Mäuse:
····· Kontrollen
— — — 2 mg/kg Megaphen
Adaptierte Mäuse:
——— Kontrollen
—··— 2 mg/kg Megaphen
—·—· 5 mg/kg Megaphen

Abb. 1. Absinken der Rectaltemperatur im Luftstrom von 5° C.

Dibenamin, DHE und Megaphen auf diesen Anpassungsvorgang zu prüfen. Wie Tab. 2 zeigt, wurde der Ruhestoffwechsel durch keinen dieser Stoffe in der angegebenen Dosierung beeinflußt. Dibenamin und DHE waren auch in der Kälte wirkungslos, während Megaphen die Erhöhung des O_2-Verbrauches signifikant bremste ($P = 0{,}02$ für 2 mg/kg,

$P < 0{,}01$ für 5 mg/kg), wobei 2 mg/kg wieder die Grenzdosis zu sein scheint. Die Rectaltemperatur war nur nach Megaphen deutlich gesenkt.

Bei sinkender Rectaltemperatur nimmt der O_2-Verbrauch auch ohne Megaphen ab. Daher wurde er in diesen Versuchen bestimmt, sobald die Temperatur der Apparatur wieder konstant geworden war. Die Zunahme

Tabelle 2.

	Kontrolle	Dibenamin 10 mg/kg	DHE 2 mg/kg	Megaphen	
				2 mg/kg	5 mg/kg
Zahl der Versuche	28	20	27	27	30
O_2-Verbrauch bei 28° C	76±3,2	78,5±4,9	83±4,2	69,5±2,9	79,5±4,1
O_2-Verbrauch bei 14—20° C	206±7,0	200±7,7	207±6,2	183±8,1	154±6,1
Rectaltemperatur am Ende d. Vers.	33,3±0,29	33,5±0,28	34,1±0,17	32,4±0,32	27,9±0,65

des Stoffwechsels trat stets sofort und in voller Höhe ein und änderte sich dann kaum mehr. In der gewählten Versuchsanordnung ließ sich keine Abhängigkeit der Größe der Steigerung vom Grad der Abkühlung feststellen.

In Versuchen an 10 anderen (kleineren) Mäusen konnten weder DHE noch Megaphen bei 28° die Stoffwechselerhöhung durch 1 mg/kg Adrenalin signifikant vermindern (Tab. 3).

Tabelle 3.

Injektion s. c.	Injektion i. p.	O_2-Verbrauch/Stunde
NaCl 0,9%	NaCl 0,9%	64 + 4,3
1 mg/kg Adrenalin	NaCl 0,9%	134 + 12,8
1 mg/kg Adrenalin	2 mg/kg DHE	121 + 14,3
1 mg/kg Adrenalin	5 mg/kg Megaphen	120 + 18,5

Besprechung der Ergebnisse.

In einer vorausgehenden Arbeit wurden die Wege diskutiert, über die Adrenalin durch eine Verbesserung der chemischen und der physikalischen Wärmeregulation zu einer Erhöhung der KR beitragen könnte[15]. Vermehrung des Adrenalingehaltes der Nebennieren und Erhöhung der KR wurden als Folge eines „stress" aufgefaßt. Es ist fraglich, ob ein längerer Aufenthalt in der Kälte als „stress" betrachtet werden kann, der seinem Wesen nach ein akutes Ereignis darstellt. Dagegen ist es auffällig, daß *bei der Maus* schon eine geringe Erniedrigung der Außentemperatur eine maximale Stoffwechselsteigerung zur Folge hat. Nur so läßt es sich erklären, daß bei dieser Tierart kein strenger Zusammenhang zwischen beiden Größen besteht. Bei dieser hohen Kälteempfindlichkeit wird man

doch am Begriff des „stress" festhalten können, zumal auch Histamin in hoher Dosierung die KR steigert[14]. Andernfalls wären verschiedene Grade der KR zu erwarten, was nie beobachtet werden konnte. Entweder die Tiere sind resistent oder nicht, Übergänge sind nicht zu fassen.

Inzwischen sind weitere Arbeiten erschienen, die sich vor allem mit der Aktivierung des endokrinen Systems durch Adrenalin befassen und eine Wirkung über die Wärmeproduktion in den Vordergrund treten lassen[4, 10, 16, 20, 23]. Da die geprüften Sympathicolytica die Stoffwechselerhöhung durch Adrenalin nicht verhindern, konnte durch die vorliegenden Untersuchungen nur Aufklärung über die Beteiligung der physikalischen Wärmeregulation an der Erhöhung der KR erwartet werden.

Dibenamin wirkt spezifisch, vollständig und langdauernd adrenolytisch, viel weniger sympathikolytisch[19, 25]. Es senkt den Stoffwechsel nicht oder nur gering und in toxischen Dosen[1] und verhindert nicht die durch Sympathicomimetica erzeugte Hypermotilität von Mäusen[18]. Trotz eines Blutdruckabfalls nimmt die periphere Durchblutung durch eine gleichzeitige Vasodilatation nicht ab[8, 17], die gerade in den Hautgefäßen deutlich ist und zu einer Erhöhung der Hauttemperatur führt[13]. Nach Adrenalin tritt keine Vasokonstriktion mehr auf[12], auch der Blutdruckanstieg nach Adrenalin bleibt aus[19, 25]. Aus der fehlenden Wirkung auf den Stoffwechsel und aus der gefundenen beschleunigten Abkühlung folgt, daß Dibenamin die KR nur über eine Störung der physikalischen Wärmeregulation herabsetzen kann. Bei den Stoffwechselversuchen war die Zirkulation der Luft so gering, daß die Tiere durch ihr Fell hinreichend vor Abkühlung geschützt wurden.

Die Wirkungslosigkeit von DHE legt den Gedanken nahe, ob es sich um eine Folge der vasodilatatorischen Eigenwirkung des Dibenamins und nicht um eine Sympathikolyse handeln könnte. DHE blockiert ebenfalls die Vasokonstriktion nach Adrenalin[7, 21], kontrahiert aber die Muskulatur der Gefäße ähnlich wie Ergotamin, wenn auch viel schwächer[22]. Diese Vasokonstriktion tritt jedoch erst nach sympathischer Denervation deutlich hervor, da sie sonst durch die sympathikolytische Gefäßerweiterung überdeckt wird[2]. Da die Kälte eine sympathikotone Reaktionslage schafft, kann man nach diesem Befund nicht annehmen, daß die vasokonstriktorische Eigenwirkung des DHE das Versuchsergebnis wesentlich beeinflußt. Ausmaß und Dauer der Blockade reichten jedenfalls nicht aus, die KR herabzusetzen. Die Grenze der wirksamen Dosis scheint sehr eng gezogen zu sein, da 5 mg/kg Dibenamin noch völlig unwirksam waren.

Courvoisier u. Mitarb. konnten zeigen, daß 5 mg/kg Megaphen die Blutdrucksteigerung nach Adrenalin ebenso umzukehren vermögen wie 10 mg/kg Dibenamin und auch eine schwache Vasodilatation bewirken. Nach den Erfahrungen bei der künstlichen Unterkühlung mußte Megaphen am besten geeignet sein, die KR herabzusetzen. Es ist nicht bekannt,

welche Bedeutung seiner sympathikolytischen Wirkungskomponente dabei zukommt; die vorliegenden Befunde können keinen Beitrag zu dieser Frage leisten. Es verdient hervorgehoben zu werden, daß *Megaphen die Stoffwechselsteigerung hemmt* in einer Dosierung, die den *Grundumsatz nicht herabsetzt* bzw. auf den Minimalwert reduziert[3]. Die Grenzdosis ist dieselbe für die Senkung der KR und die Verminderung der Erhöhung im O_2-Verbrauch. Außerdem wird in den Stoffwechselversuchen nur durch Megaphen die Rectaltemperatur gesenkt. Danach kann die Reduktion der Umsatzsteigerung ausreichen, um die Herabsetzung der KR zu erklären. Die sympathikolytische Komponente des Megaphen scheint dabei keine Rolle zu spielen, da die Stoffwechselsteigerung nach Adrenalin nicht verhindert wird. Thauer rechnete nach, daß beim Menschen die Herabsetzung des Stoffwechsels allein nicht ausreicht, die schnelle Senkung der Rectaltemperatur zu erklären. Danach muß auch eine sympathikolytische Wirkung an den Gefäßen eine Rolle spielen, die eine Wärmeabgabe erleichtert, sich jedoch auf indirekte Weise aus diesen Versuchen nicht nachweisen läßt.

In der Kälte erhöht sich die Empfindlichkeit der Gefäße für konstriktorische Einflüsse[6], so daß es verständlich ist, wenn erst eine vollständige Blockade wirksam wird. Nach diesen Ergebnissen wird man allerdings den Beitrag des Adrenalins zur KR über eine Verbesserung der physikalischen Wärmeregulation nicht hoch einschätzen können.

Zusammenfassung.

An Mäusen wurde der Einfluß von Dibenamin, DHE und Megaphen auf die Auskühlungsgeschwindigkeit im kalten Luftstrom und die Stoffwechselerhöhung in der Kälte geprüft.

1. 10 mg/kg Dibenamin beschleunigen das Sinken der Rectaltemperatur, vermindern aber nicht die Erhöhung des O_2-Verbrauchs in der Kälte.

2. DHE ist auch in einer Dosierung von 2 mg/kg wirkungslos.

3. Bereits 2 mg/kg Megaphen haben einen beschleunigten Abfall der Rectaltemperatur zur Folge, verbunden mit einem verminderten Anstieg des O_2-Verbrauchs.

4. Keines dieser Pharmaka kann die Stoffwechselerhöhung durch Adrenalin herabsetzen.

Über den Einfluß des Adrenalins auf die Wärmeerzeugung kann aus diesen Versuchen nichts ausgesagt werden. Der Beitrag des Adrenalins zur Kälteresistenz über die physikalische Wärmeregulation muß als gering eingeschätzt werden.

Literatur.

[1] Biörck, G., and O. Hall: Acta physiol. scand. (Stockh.) **14**, 186 (1947). — [2] Bluntschli, H. J., u. R. H. Goetz: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 769. — [3] Brendel, W., E. Koppermann u. R. Thauer: Pflügers Arch. **259**, 177 (1954). — [4] Catz,

B., I. E. Rawi and E. Geiger: Amer. J. Physiol. **174**, 29 (1953). — [5] Courvoisier, S., J. Fournel, R. Ducrot, M. Kolsky et P. Koetschet: Arch. internat. Pharmacodynamie **92**, 305 (1953). — [6] DesMarais, A., and L. P. Dugal: Canad J. Med. Sci. **29**, 90 (1951). — [7] Fink, L. D., and T. A. Loomis: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **80**, 481 (1952). — [8] Folkow, B., and B. Uvnäs: Acta physiol. scand. **17**, 191 (1949). — [9] Fregly, M. J.: Amer. J. Physiol. **173**, 393 (1953). — [10] Gershberg, H., E. G. Fry, J. R. Brobeck and C. N. H. Long: Yale J. Biol. a. Med. **23**, 32 (1950). — [11] Gilson, S. B.: Amer. J. Physiol. **161**, 87 (1950). — [12] Haimovici, H.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **64**, 486 (1947). — [13] Hardgrove, M., and D. J. Mendelson: J. Labor. a. Clin. Med. **33**, 1496 (1948). — [14] Jarisch, A.: Klin. Wschr. **1944**, 213. — [15] Jarisch, A., u. W. Schaumann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 124 (1952). — [16] Kroneberg, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 148 (1952). — [17] Leroy, G. V., L. A. Nalefski and H. W. Christy: J. Labor. a. Clin. Med. **33**, 1496 (1948). — [18] Nickerson, M.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **95**, Part II, 27 (1949). — [19] Nickerson, M., and L. S. Goodman: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **89**, 167 (1947). — [20] Pichotka, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 268 (1952). — [21] Rothlin, E.: Helvet. physiol. Acta **2**, C48 (1944). — [22] Rothlin, E.: Bull. schweiz. Akad. Med. Wiss. **2**, 249 (1947). — [23] Starr, P., and R. Roskelley: Amer. J. Physiol. **130**, 549 (1940). — [24] Thauer, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 80 (1954). — [25] Vleeschhouwer, G. R. de: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **66**, 151 (1947).

Dr. Wolfgang Schaumann, Göttingen, Pharmakol. Inst. d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 55—65 (1955).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Heidelberg.

Weitere Untersuchungen über die Kinetik der Cholinesterasen und ihre Beeinflussung durch Atropin*.

Von

Wolfgang Hardegg, Rolf Dohrmann und Doris Bechinger.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. August 1954.)

Einleitung.

Im Rahmen verschiedener Untersuchungen über die Frage, ob die Kinetik der Cholinesterasen (ChE) als Modell für die teilweise recht komplexe Kinetik der Acetylcholin (ACh)-Wirkung in vivo dienen kann[5], berichteten wir kürzlich über den Einfluß von Atropin auf die menschliche Serum-ChE[6]. Es ergab sich unter anderem dabei der bemerkenswerte Befund, daß Atropin die Hydrolyse von Benzoylcholin (BeCh) je nach den Konzentrationen der beteiligten Reagenden beschleunigen oder hemmen kann. Verschiedene Überlegungen und Kombinationsversuche mit Prostigmin führten uns zu dem Schluß, daß die „Aktivierungen" durch Atropin auf einer Verminderung der Hemmung des Fermentes durch das Substrat, die wir „Autokatastase"[4] nannten, beruht. Die Befunde stützten in starkem Maße die von Schaefer[10] vorgeschlagene Kinetik der ChE.

Die Modellvorstellung zu dieser Kinetik besagt, daß neben der zur Spaltung des Substrats führenden Reaktion noch eine zweite, von der ersten mehr oder minder unabhängige Reaktion abläuft, die zu einer Hemmung der katalytischen Aktivität des Fermentes führt (Autokatastase). Spaltung und Hemmung erfolgen nach unseren Befunden vermutlich an verschiedenen Stellen des Fermentmoleküls. Gegenüber den bisherigen kinetischen Vorstellungen und Gleichungen[8, 2] hat die Kinetik nach Schaefer den Vorteil, daß die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit der Bruttoreaktion von der Substratkonzentration sowohl bei den sogenannten echten als auch sogenannten Pseudo-ChE formal durch den gleichen mathematischen Ansatz befriedigend beschrieben werden kann.

Unsere Befunde mit der menschlichen Serum-ChE und Atropin ließen den Schluß zu, daß Atropin zu dieser ChE eine wesentlich höhere Affinität besitzt als bisher angenommen wurde. Im Zusammenhang damit diskutierten wir die Frage, ob nicht das nach unserer Auffassung sehr komplex gebaute ChE-Molekül identisch mit den Receptoren der ACh-Wirkung ist.

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Hoffman-La Roche A.G., Grenzach/Baden.

Um unsere Vorstellungen über die Kinetik der ChE und über die Analogie der Reaktionen an ChE und ACh-Receptoren zu stützen, führten wir neben kinetischen Untersuchungen in vivo weitere Versuche mit den ChE im Darm von Meerschweinchen durch. Unter anderem galt es zu prüfen:

1. Folgt die Abhängigkeit der Spaltgeschwindigkeit verschiedener Substrate von ihrer Konzentration auch hier der Gleichung von Schaefer?

2. Beeinflußt Atropin die Hydrolyse besonders von Benzolycholin in qualitativ gleichartiger Weise wie bei der menschlichen Serum-ChE?

Beide Annahmen konnten voll bestätigt werden. Die Versuche mit Benzoylcholin und Atropin gaben weiter verschiedene Ergebnisse, die uns für die Beurteilung der Frage, wie stark eine Substanz die ChE beeinflußt, prinzipiell sehr wesentlich erscheinen.

Methodik.

Meerschweinchen im Gewicht von 200—600 g wurden durch Nackenschlag getötet und entblutet. Der Darm wurde sorgfältig mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, unter Umständen von anhaftendem Bindegewebe befreit und homogenisiert. Das Homogenat wurde scharf abzentrifugiert und die klare überstehende Flüssigkeit als Fermentpräparat benutzt. Die Messungen der Fermentaktivität erfolgten manometrisch, indem wir uns genau an die früher von uns[3] beschriebene Modifikation der Vorschrift von Ammon[1] hielten. Versuchstemperatur 21,0°. Als Substrate benutzten wir Acetylcholinchlorid (ACh), Benzoylcholinchlorid (BeCh) und Butyrylcholinchlorid (BuCh). Atropin stand uns als Disulfat zur Verfügung.

Befunde.

Die Kinetik der Darmcholinesterasen des Meerschweinchens.

Wir prüften zunächst, inwieweit die Gleichung von Schaefer[9, 10] geeignet ist, die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration zu beschreiben. Die Gleichung lautet bekanntlich folgendermaßen:

$$-\frac{dc_S}{dt} = k_1 \cdot c_{E_o} \cdot c_S \cdot \frac{k_5}{c_{S_o}^{k_3} + k_5}$$

k_1, k_3 und k_5 sind Reaktionskonstanten
c_{Eo} = gesamte Fermentkonzentration
c_{So} = anfängliche Substratkonzentration
c_S = laufende Substratkonzentration

Ihr Integral gibt, wenn wir annehmen, daß die Hemmung durch das Substrat (Autokatastase) genau so groß ist wie die der Spaltprodukte, einen Exponentialansatz.

Ist $c_{So}^{k_3} \gg k_5$, so müssen alle Punkte auf einer Geraden liegen, wenn wir die Logarithmen der Substratkonzentration gegen die Logarithmen der Halbwertszeiten der einzelnen Spaltverläufe aufzeichnen. Die Halbwertszeiten (τ) haben wir entsprechend dem früheren Vorgehen[3] aus

$$\tau = \frac{\ln 2}{S_o} \cdot c_{S_o} : \left(S_o = -\frac{dc_{S_o}}{dt}\right)$$

berechnet, da, wie wir früher bereits feststellten, obige Annahme über gleiche Hemmung durch Substrat und Spaltprodukte nicht erfüllt ist.

In Abb. 1 ist ein Beispiel für die Auswertung dargestellt. Es zeigt sich, daß bei höheren Substratkonzentrationen sowohl bei ACh als auch bei BeCh und BuCh alle Punkte auf einer Geraden liegen.

Nur bei BuCh weicht ein Punkt bei der höchsten von uns untersuchten Substratkonzentration von dem theoretisch zu erwartenden Wert ab. Es handelt sich hier nicht um einen Versuchsfehler, sondern offenbar um die gleiche Abweichung, wie wir sie früher bereits bei ACh und auch Propionylcholin und BuCh bei der

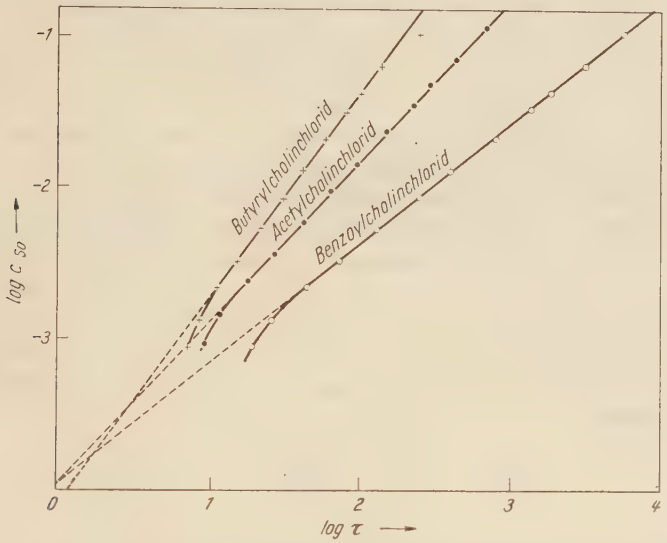


Abb. 1. Beziehungen zwischen den Logarithmen der Substratkonzentration und den Logarithmen der Halbwertszeiten (τ) der einzelnen Spaltkurven (berechnet aus den Anfangssteilheiten S_0) für Acetylcholin, Butyrylcholin und Benzoylcholin. (Darm-ChE vom Meerschweinchen.)

menschlichen Serum-ChE fanden[3, 4]. Bemerkenswert ist nur, daß in dem hier beschriebenen Fall die Abweichung bei etwa 10mal höheren Substratkonzentrationen auftritt als bei der menschlichen Serum-ChE. Sonst wird die Gleichung ausreichend erfüllt.

Die bei niedrigen Substratkonzentrationen auftretenden Abweichungen sind dadurch bedingt, daß in diesem Bereich der Wert für $c_{S_0}^{k_3}$ in die Größenordnung des Wertes für k_5 kommt. Die Abweichungen gestatten es, den numerischen Wert für k_5 zu berechnen. Die Werte für die Konstanten betragen für das hier gebrachte Beispiel:

bei ACh für $k_3 = 0{,}94$; für k_5 etwa $3 \cdot 10^{-4}$; für $k_1 \cdot c_{E_0}$ etwa 0,5
bei BuCh „ „ $= 0{,}73$; „ „ „ $2 \cdot 10^{-3}$; „ „ etwa 0,4
bei BeCh „ „ $= 1{,}25$; „ „ „ $6 \cdot 10^{-5}$; „ „ etwa 0,1

K_5 und $k_1 \cdot c_{E_o}$ wurden berechnet nach

$$k_5 = \frac{\tau}{k_4} - c_{S_o}^{k_3}$$

$$k_1 \cdot c_{E_o} = \frac{\ln 2}{k_4 \cdot k_5}$$

$k_4 = \left(\frac{\ln 2}{k_1 \cdot c_{E_o} \cdot k_5}\right)$ ist eine Hilfskonstante und läßt sich aus dem Schnittpunkt der verlängerten Gerade auf der Ordinate und der Steilheit der Geraden berechnen. (Genaue Ableitung siehe die früheren Arbeiten von Schaefer[9] und Schaefer u. Maier[10].) Die Werte für k_5 und $k_1 \cdot c_{E_o}$ sind nicht genauer als angegeben zu bestimmen, da relativ kleine experimentelle Fehler bei den niedrigen von uns untersuchten Substratkonzentrationen zu größeren Abweichungen führen können. Die Berechnung wird um so ungenauer, je geringer die Abweichungen der einzelnen experimentell ermittelten Werte von der Geraden sind.

Die Befunde lassen sich folgendermaßen anschaulich interpretieren: Zunächst ist festzustellen, daß für alle 3 Substrate die Gleichung von Schaefer zutrifft. Die Werte für die einzelnen Konstanten sind verschieden. Treffen unsere Anschauungen zu, so können wir aus den Werten die Stärke der Autokatastase berechnen, die natürlich für jede Substratkonzentration einen anderen Wert hat. Für den Ausdruck $\frac{k_5}{c_{S_o}^{k_3} + k_5}$, der die Stärke der Autokatastase bestimmt, würden sich nach dem oben angegebenen Beispiel für die Zahlengrößen der Konstanten folgende Werte ergeben:

bei 10^{-3} m für ACh 0,16, für BuCh 0,24, für BeCh 0,25
bei 10^{-2} m „ „ 0,022, „ „ 0,054, „ „ 0,019
bei 10^{-1} m „ „ 0,0026, „ „ 0,011, „ „ 0,0009.

Das bedeutet, daß bei einer Substratkonzentration z. B. von 10^{-2} bei BuCh nur noch 5,4%, bei ACh nur noch 2,2% und bei BeCh nur noch 1,9% aller vorhandenen Fermentmoleküle aktiv wären; die restlichen sind durch die Substrate gehemmt. Diese Zahlen sind für die folgende Betrachtung wesentlich.

Die Werte für die kinetischen Konstanten variieren nach unseren bisherigen Beobachtungen von Tier zu Tier. So haben wir für k_3, das ziemlich genau bestimmbar ist, bei ACh Werte zwischen 0,85 und 0,97, bei BeCh Werte zwischen 1,17 und 1,3 und bei BuCh Werte zwischen 0,7 und 0,85 gewonnen.

Einfluß von Atropin auf die Benzoylcholinhydrolyse durch Darm-ChE vom Meerschweinchen.

Nach unseren früheren Untersuchungen kann Atropin unter bestimmten Konzentrationsbedingungen die Hydrolyse von BeCh beschleunigen. Wir führten das auf eine Enthemmung des Fermentes zurück. Eine Enthemmung kann nur dann deutlich sichtbar werden, wenn die Autokatastase groß ist. Nach den oben angeführten Berechnungen ist bei den 3 von uns untersuchten Substraten die Autokatastase bei BeCh am

stärksten. Wir durften daher erwarten, daß bei Zutreffen unserer Hypothese bei diesem Substrat eine „Aktivierung" am ehesten sichtbar wird. Die Ergebnisse bestätigen die Annahme.

In Abb. 2 ist ein Versuch dargestellt, der die Beeinflussung der Spaltgeschwindigkeit durch Atropin in Abhängigkeit von Substrat und Atropinkonzentration bei 6 verschiedenen BeCh-Konzentrationen darstellt. Die Ergebnisse, die wir in verschiedenen Versuchen qualitativ immer wieder reproduzieren konnten, sind recht merkwürdig und widersprechen allen Vorstellungen über einen einfachen Mechanismus der

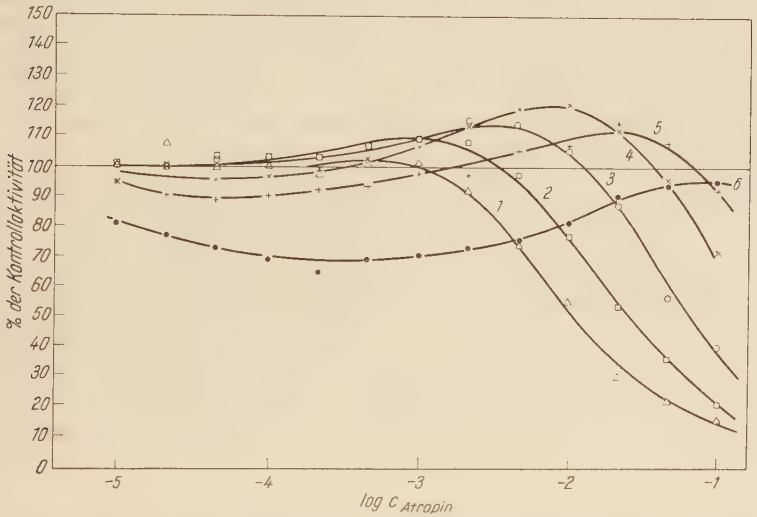


Abb. 2. Einfluß von Atropin auf die Geschwindigkeit der Spaltung von Benzoylcholin durch Darm-ChE vom Meerschweinchen. Ordinate: prozentuale Abweichung von der jeweiligen Kontrollaktivität. Abszisse: Log. der Atropinkonzentration. Substratkonzentrationen: Kurve *1*: $3{,}2 \cdot 10^{-3}$ m (2,02). Kurve *2*: $6{,}5 \cdot 10^{-3}$ m (1,86). Kurve *3*: $1{,}3 \cdot 10^{-2}$ m (1,70). Kurve *4*: $2{,}6 \cdot 10^{-2}$ m (1,43). Kurve *5*: $5{,}2 \cdot 10^{-2}$ m (1,35). Kurve *6*: $1{,}0 \cdot 10^{-1}$ m (1,32). In Klammern: die Anfangssteilheit (ausgedrückt in mm^3 CO_2/min) für die jeweiligen Kontrollansätze ohne Atropin. k_3 hat bei diesem Beispiel einen Wert von 1,17.

Beeinflussung der ChE durch Atropin. Bei der kleinsten Substratkonzentration ($3{,}2 \cdot 10^{-3}$ m) und kleinen Atropinkonzentrationen ist praktisch keine Beeinflussung der Spaltgeschwindigkeit feststellbar. Erst ab 10^{-3} m Atropin erfolgt eine zunehmend stärker werdende Hemmung der Aktivität. Eine Beschleunigung ist in diesem Falle nicht zu sehen. Bei mittleren Substratkonzentrationen ($6{,}4 \cdot 10^{-3}$ m und $1{,}2 \cdot 10^{-2}$ m) wird ab 10^{-4} m Atropin die Spaltgeschwindigkeit beschleunigt. Bei höheren Atropinkonzentrationen nimmt die Geschwindigkeit wieder ab und die Aktivität wird fortlaufend stärker gehemmt. Bei den höheren Substratkonzentrationen ($2{,}6 \cdot 10^{-2}$ bis $1 \cdot 10^{-1}$ m) wird die Spaltung bereits bei kleinen Atropinkonzentrationen gehemmt (bei $2{,}6 \cdot 10^{-2}$ m

BeCh nur angedeutet); die Hemmung ist um so *größer*, je *höher* die Substratkonzentration war! Die Stärke der Hemmung geht, nachdem sie ein Maximum erreicht hat, bei fortlaufend höheren Atropinkonzentrationen wieder zurück. Bei 2,6 und $5{,}2 \cdot 10^{-2}$ m BeCh überschreitet die Reaktionsgeschwindigkeit unter dem Einfluß von Atropin sogar wieder die Kontrollaktivität. Das Maximum der von uns beobachteten Beschleunigung mit 120% der Kontrollaktivität liegt bei einer BeCh-Konzentration von $2{,}6 \cdot 10^{-2}$ m bei 10^{-2} m Atropin. Das Maximum der Beschleunigung wird mit zunehmend höheren Substratkonzentrationen auf höhere Atropinkonzentrationen verschoben. Bei sehr hohen Atropinkonzentrationen (10^{-2}—10^{-1} m) erfolgt in allen Fällen eine zunehmend stärker werdende Hemmung. Die Hemmung ist um so größer, je kleiner die Substratkonzentration gewählt wurde, im Gegensatz zu der bei kleineren Atropinkonzentrationen auftretenden Hemmung, die um so größer war, je höher die Substratkonzentration war.

Die Hydrolyse von BeCh durch unsere Fermentpräparate wurde durch den selektiven Hemmstoff der sogenannten Pseudo-ChE, den Dimethylcarbaminsäureester des 3-Oxyphenylbenzyltrimethylammoniums (Ro 2-0683) (Hawkins u. Gunter[7]) bei Konzentrationen von 10^{-7} m und höher vollkommen gehemmt. Es ist daher anzunehmen, daß die Hydrolyse hauptsächlich durch eine sogenannte Pseudo-ChE erfolgt. In verschiedenen Kontrollansätzen prüften wir, ob durch unsere Fermentpräparate Atropin hydrolysiert wird. Die von uns beobachtete Spaltung war jedoch so gering, daß sie ohne weiteres vernachlässigt werden kann. Der registrierte Druckanstieg in den Reaktionsgefäßen, den wir der Berechnung der Spaltgeschwindigkeit zugrunde legten, ist daher nur auf die Hydrolyse von BeCh zurückzuführen.

Einfluß von Atropin auf die Hydrolyse von Acetylcholin und Butyrylcholin.

Die in unserer vorherigen Mitteilung[6] beschriebenen Befunde mit BeCh und der Serum-ChE waren in vieler Hinsicht ähnlich den hier mitgeteilten. Bei Verwendung von ACh als Substrat konnten wir früher in keinem Fall eine Beschleunigung der Hydrolyse feststellen. Es trat nur eine je nach den Konzentrationen mehr oder minder starke Hemmung der Spaltung auf. Die Befunde mit ACh sprachen nicht für den von uns postulierten komplexen Reaktionsmechanismus an den ChE; sie konnten auch durch die Annahme einer einfachen kompetitiven Hemmung erklärt werden. Trotzdem diskutierten wir auf der Basis unserer Befunde mit BeCh und angeregt durch die Befunde der Kombinationsversuche mit Prostigmin die Frage, ob nicht auch bei ACh als Substrat durch Atropin eine Beschleunigung (= Enthemmung) der Spaltung erfolgt, die „aktivierende Wirkung" aber durch eine stärkere hemmende Komponente überlagert wird. Nach unseren Vorstellungen kann eine Beschleunigung nur dann deutlich sichtbar werden, wenn die Autokatastase groß ist. Bei der menschlichen Serum-ChE und ACh ist letztere stets relativ gering, insbesondere ist der Wert für k_3 der Schaeferschen Gleichung bei ACh wesentlich geringer als bei BeCh, nach unseren Erfahrungen um 0,75—0,8. Nach den im vorherigen Abschnitt mitgeteilten Daten liegt der Wert für k_3 bei der Darm-ChE vom Meerschweinchen für ACh etwas höher, und zwar zwischen 0,85 und 0,97. Wenn unsere Vorstellungen richtig sind, so müßte unter Umständen bei der Darm-ChE eine leichte Beschleunigung auch bei ACh als Substrat feststellbar sein, da die Stärke

der Autokatastase bei einer gegebenen Substratkonzentration von der Größe von k_3 mitbestimmt wird.

In einer großen Reihe von Versuchen prüften wir diese Frage. Die dabei gewonnenen Ergebnisse sind unterschiedlich. Bei höheren Atropinkonzentrationen (ab 10^{-4} m) war immer nur eine Hemmung feststellbar. Bei kleinen Atropinkonzentrationen (zwischen $3 \cdot 10^{-6}$ und $3 \cdot 10^{-5}$ m) konnten wir jedoch in verschiedenen Fällen eine leichte Aktivierung beobachten. Eine solche trat aber nur bei Substratkonzentrationen um $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ m auf. Bei höherer ACh-Kozentration war keine Beeinflussung zu sehen. Wesentlich erscheint dabei, daß die beschleunigende Wirkung nur bei Darmpräparaten auftrat, die ein höheres k_3 (um 0,95) besaßen. Die Beschleunigungen der Spaltgeschwindigkeit waren in ihrem Ausmaß nur sehr gering (bis etwa 10%), sie liegen daher in der Nähe der Fehlergrenze der Methodik. Außerdem schwankten die Ergebnisse von Tier zu Tier und schienen überdies abhängig von dem Alter der Präparate zu sein. Je älter das Präparat, das im Eisschrank bei 4° C aufbewahrt wurde, war, um so geringer war gewöhnlich der Effekt. In einem von uns in Vorversuchen als für unsere Fragestellung geeignet befundenen Darmpräparat konnten wir z. B. eine Aktivierung von + 6,5% nachweisen. Die Aktivität, ausgedrückt in mm^3 CO_2/min, betrug bei 3 parallel angesetzten Kontrollen 1,27, 1,30, 1,31, Durchschnitt: 1,294, bei 3 gleichartigen Ansätzen mit $3{,}16 \cdot 10^{-5}$ m Atropin 1,37, 1,39, 1,38, im Durchschnitt: 1,38 (ACh-Konzentration $2 \cdot 10^{-3}$ m).

Ähnliche Ergebnisse gewannen wir auch mit BuCh als Substrat. Auch hier war bei Präparaten, die einen höheren Wert für k_3 aufwiesen (um 0,85), eine leichte Beschleunigung der Spaltung bei kleinen Substrat- und Atropinkonzentrationen festzustellen. Vergleichsuntersuchungen mit ACh und BuCh an gleichen Präparaten ergaben in unseren bisherigen Versuchen: In den Fällen, bei denen der Wert für k_3 bei BuCh kleiner war als bei ACh, wurde die BuCh-Hydrolyse durch Atropin stärker gehemmt. Bei annähernd gleichem k_3 für beide Substrate war die Stärke der Hemmung ebenfalls annähernd gleich. Nach unseren Beobachtungen scheint es so zu sein, daß die Stärke der Hemmung bei einer gegebenen Atropinkonzentration um so geringer ist, je größer der Wert für k_3 gefunden wurde.

Diskussion.

Unsere Befunde über den Einfluß von Atropin auf die Hydrolyse von BeCh durch die Darm-ChE vom Meerschweinchen widersprechen allen bisherigen Vorstellungen über den Einfluß eines Hemmstoffes auf einfach gebaute Fermentmoleküle. Das qualitative Bild ähnelt in vieler Hinsicht den Ergebnissen mit der menschlichen Serum-ChE, insbesondere die abhängig von der Substrat- und Atropinkonzentration auftretende Beschleunigung und Hemmung. Zusätzlich fanden wir jetzt bei der Darm-ChE die merkwürdige Erscheinung, daß bei sehr hohen Substrat- und relativ niedrigen Atropinkonzentrationen eine Hemmung der Aktivität auftrat. Diese Hemmung war um so stärker, je höher die Substratkonzentration war, bei kleineren war kein deutlicher Einfluß feststellbar. Das ganze Bild kann nicht durch die Annahme einfacher Massenwirkungsgleichgewichte zwischen Substrat, Hemmstoff und einem Fermentmolekül mit nur einer reaktionsfähigen Gruppe erklärt werden. Es erscheint uns aber möglich, eine Erklärung auf Grund unserer Modellvorstellung zu geben. Diese besagt im Prinzip folgendes: Das Fermentmolekül enthält eine Gruppe, die mit dem Substrat reagiert und an der das Substrat

gespalten wird. Nach unserer Auffassung ist der zeitbestimmende Teilvorgang bei dieser Reaktion nicht, wie es die Michaelis-Theorie[8] voraussetzt, die Spaltung des Substrats, sondern die Geschwindigkeit der Bildung des Ferment-Substrat-Komplexes. Neben der zur Spaltung führenden Reaktion erfolgt eine zweite Reaktion zwischen Ferment und Substrat — sehr wahrscheinlich an anderen Stellen des Fermentmoleküls —, die zu einer Hemmung der katalytischen Aktivität des aktiven Zentrums führt. (Letztere Reaktion ist möglicherweise der ersteren vorgelagert.)

Die von uns beobachtete Beschleunigung der Spaltung von BeCh führen wir auf eine Verminderung der relativ starken Autokatastase zurück. Anschaulich könnte das folgendes bedeuten: Atropin reagiert mit den Gruppen des Ferments, an der das Substrat seine Spaltung hemmt. Beide konkurrieren an der gleichen Gruppe. Die der Autokatastase analoge Hemmung durch Atropin ist geringer als die durch BeCh. In diesem Falle kann Atropin unter bestimmten Bedingungen die Spaltung scheinbar aktivieren. Die bei höheren Atropinkonzentrationen in Erscheinung tretende Hemmung der Spaltung ist vermutlich zu einem beträchtlichen Teil auf eine Reaktion zwischen Atropin und den hydrolysierenden Gruppen des Fermentes zurückzuführen, d. h. das aktive Zentrum wird zusätzlich blockiert.

Wenn unsere Vorstellungen richtig sind, muß damit die Stärke der Enthemmung von mindestens zwei Faktoren abhängig sein, die sich gegenseitig überlagern.

1. Von der jeweiligen Konzentration an Substrat und Atropin und ihrer Affinität zu den hemmenden Gruppen des Fermentes.

2. Von der Stärke der jeweiligen Autokatastase, die bestimmt wird von der Konzentration des Substrats.

Das würde z. B. bedeuten, daß bei gleicher Atropin- und steigender Substratkonzentration das Gleichgewicht immer mehr zugunsten des Substrats verschoben wird, und damit die Reaktionsgeschwindigkeit sich immer mehr der des Kontrollansatzes nähert. Andererseits wird die Stärke der Enthemmung um so größer sein, je größer die Autokatastase selber ist. Die Stärke der Enthemmung wird besonders bei hohen Atropinkonzentrationen, die das Gleichgewicht zwischen Substrat und Atropin zugunsten des letzteren verschieben, erheblich von der Stärke der jeweiligen Autokatastase abhängen. Die Autokatastase ist nach dem oben Gesagten bei kleinen Substratkonzentrationen geringer als bei höheren. Damit wird bei kleinen Substratkonzentrationen die enthemmende Wirkung nicht so stark sein, und die hemmende Komponente wird stärker ins Gewicht fallen.

Wenn gleichzeitig Atropin auch mit dem aktiven Zentrum reagiert, muß zusätzlich eine Hemmung der Spaltung resultieren. Nach den bisherigen Vorstellungen würde diese Hemmung um so geringer sein, je höher die Substratkonzentration ist, denn es würde sich um eine kompetitive Hemmung handeln. Das scheint aber nicht der Fall zu sein, wenn wir die bei hohen BeCh-Konzentrationen und niedrigen Atropinkonzentrationen auftretende Hemmung mit einer Reaktion zwischen Atropin und den spaltenden Zentren erklären. Nach unserer Modellvorstellung erfolgt nun aber an dem aktiven Zentrum keine merkliche Komplexbildung mit dem Substrat. Die Hemmung muß, wie wir an anderer Stelle ausführlich zeigen wollen, in diesem Fall dann formal als nicht-kompetitiv angesprochen werden, obwohl beide Substanzen, Atropin und Substrat, mit den gleichen Gruppen reagieren; das liegt daran, daß für Atropin die Fermentmoleküle in jedem Fall frei sind, eine merkliche Konzentration eines aktiven Ferment-Substratkomplexes liegt nicht vor. Der Verlauf besonders der Kurve 6 in Abb. 2 könnte dann folgendermaßen gedeutet

werden: Atropin verbindet sich mit dem aktiven Zentrum, und zwar wird diese Reaktion nicht oder nicht wesentlich durch die Anwesenheit des Substrats beeinflußt. Die Stärke dieser Hemmung nimmt mit fortlaufend höherer Atropinkonzentration zu. Gleichzeitig konkurrieren Substrat und Atropin an den hemmenden Gruppen des Fermentes. Da die Substratkonzentration sehr hoch ist (10^{-1} m), können kleine Atropinkonzentrationen die Autokatastase nicht oder nur wenig beeinflussen. Erst fortlaufend höhere Atropinkonzentrationen sind in der Lage, die Autokatastase zunehmend stärker zu vermindern. Die enthemmende Wirkung kann auf Grund unserer Überlegungen nur ein bestimmtes Maximum erreichen. Steigt die Atropinkonzentration noch höher, so muß die nach einem einfachen Massenwirkungsgesetz immer stärker werdende Hemmung wieder überwiegen und die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt wieder ab.

Die nach Abb. 2 sehr deutliche Abhängigkeit der Stärke der Hemmung von der Substratkonzentration bei hohen Atropinkonzentrationen könnte damit auch eine andere Erklärung finden. Sie wäre nicht, wie eine oberflächliche Betrachtung schließen ließe, als kompetitive Hemmung aufzufassen, sondern sie wäre durch Überlagerung der formal nicht-kompetitiven Hemmung am aktiven Zentrum und der Stärke der Enthemmung bedingt. Die Stärke der Enthemmung ist besonders bei höheren Atropinkonzentrationen zu einem beträchtlichen Teil von der Stärke der jeweiligen Autokatastase abhängig. Damit wird bei kleinen Substratkonzentrationen mit der geringeren Autokatastase die Enthemmung schwächer sein als bei höheren. Da bei einer gegebenen Atropinkonzentration die hemmende Komponente voraussetzungsgemäß unabhängig von der Substratkonzentration ist, wird also die in der Bruttoreaktion auftretende Hemmung bei kleinen Substratkonzentrationen stärker sein.

Unsere Modellvorstellung über die Reaktionen an den ChE erklärt damit qualitativ das im ersten Augenblick sehr komplex erscheinende Bild der Abhängigkeit der Benzoylcholinspaltung durch die Darm-ChE von der Atropin- und Substratkonzentration. Die Befunde und Überlegungen bestätigen weiter die Richtigkeit unserer früheren Feststellungen und zeigen, daß die Kinetik der ChE nicht mit einfachen schematischen Vorstellungen zu erklären ist.

Es muß natürlich der Einwand berücksichtigt werden, daß das komplexe Bild durch die Anwesenheit verschiedener BeCh-spaltender Fermente in unseren Darmpräparaten herrührt oder durch eine zusätzliche Spaltung von Atropin hervorgerufen wird. Letzteres kann durch unsere Kontrollversuche ausgeschlossen werden. Wir wollen hier auf eine ausführliche Diskussion verzichten, da nach unseren Überlegungen die Betrachtung der verschiedenen Möglichkeiten ins Uferlose führen würde, das Bild keineswegs klarer würde und noch mehr Hilfsannahmen notwendig wären. Dabei müßte eine „aktivierende" Wirkung von Atropin in jedem Fall angenommen werden. Gegen die Anwesenheit von BeCh-spaltenden Fermenten, die nicht als ChE aufzufassen sind, spricht weiter, daß die Spaltung durch den selektiven Hemmstoff der Pseudo-ChE, Ro 2-0683, schon bei 10^{-7} m vollkommen gehemmt wird.

Unabhängig aber, ob die Annahme zurecht besteht, daß der Atropineffekt nur an einem Ferment ausgelöst wird — das läßt sich definitiv nur an hochgereinigten Präparaten und durch sorgfältige Kontrollversuche prüfen —, geben die Befunde unserer Meinung nach eine für die praktische Austestung von Substanzen an den ChE eine wesentliche Schlußfolgerung, die besagt:

Es ist praktisch unmöglich, über die Beeinflussung von ChE durch bestimmte Verbindungen, insbesondere reversible Hemmstoffe, und ihre Affinität zu den Fermenten etwas Definitives auszusagen, wenn nicht gleichzeitig die Versuchsbedingungen soweit wie möglich variiert werden.

Das sei kurz illustriert. Wir sahen, daß bei hohen BeCh-Konzentrationen ($1 \cdot 10^{-1}$ m) eine Hemmung der Aktivität schon bei 10^{-5} m Atropin auftritt. Bei $3{,}2 \cdot 10^{-3}$ m BeCh ist kein deutlicher Einfluß bei der gleichen Atropinkonzentration festzustellen. Es ist nach dem bisher Gesagten ausgesprochen unwahrscheinlich, daß bei den kleinen Substratkonzentrationen keine Beeinflussung des Fermentes vorliegt. Die beiden Komponenten der Atropinwirkung kompensieren sich hier offenbar gerade. Würden wir unsere Untersuchungen nur bei dieser Substratkonzentration, oder, wie es gewöhnlich üblich ist, bei $6 \cdot 10^{-3}$ m durchführen, so würden wir zu dem Schluß kommen, daß Atropin erst ab 10^{-3} bis 10^{-2} m die BeCh-Hydrolyse hemmt. Die leichte Beschleunigung der Spaltung bei $6 \cdot 10^{-3}$ m BeCh (bei $3 \cdot 10^{-3}$ m fehlt sie vollkommen) liegt in der Grenze der Versuchsfehler und könnte übersehen werden. Der Schluß wäre: Atropin hat nur einen unwesentlichen und für den Wirkungsmechanismus des Pharmakons nicht zu berücksichtigenden Einfluß auf das Ferment. Das ist aber sehr wahrscheinlich nicht der Fall.

Angewendet auf unsere Befunde mit ACh und BuCh als Substrat muß die hier diskutierte Frage ebenfalls aufgeworfen werden. Es war nicht möglich, bei ACh und BuCh so eindeutige Ergebnisse wie bei BeCh zu gewinnen. Unsere bisherigen Erfahrungen sprechen aber doch sehr dafür, daß unter bestimmten Bedingungen eine leichte Beschleunigung der Spaltung auftreten kann, und zwar bei ebenfalls relativ geringen Atropinkonzentrationen (10^{-5} m). Da nach unserer kinetischen Betrachtung die Autokatastase bei ACh und BuCh geringer ist als bei BeCh, insbesondere ist der Wert für k_3 deutlich niedriger, kann auch eine Beschleunigung (= Enthemmung) sich nicht so deutlich zeigen. Der inkonstante und nur geringfügige Einfluß niedriger Atropinkonzentrationen auf die Geschwindigkeit der Bruttoreaktion bei der Spaltung von ACh und BuCh darf also nicht zu dem Schluß führen, daß Atropin die Spaltung dieser Substrate erst bei sehr hohen Konzentrationen hemmt. Bezüglich dieser und weiterer Überlegungen verweisen wir auf unsere frühere Mitteilung[6].

Das hier an einem biologischen Substrat in vitro unter relativ einfachen Bedingungen gezeigte komplexe Bild scheint uns als Modell für viele biologische Reaktionen sehr geeignet zu sein. Ohne auf die Einzelheiten hier eingehen zu wollen, folgen die Dosiswirkungskurven bei vielen Substanzen über größere Konzentrationsbereiche keineswegs einfachen Massenwirkungsgesetzen. Bei vielen Substanzen, insbesondere Acetylcholin und Adrenalin, finden wir bei höheren Konzentrationen eine Abnahme der Wirkungsstärke oder sogar eine Wirkungsumkehr, die in Analogie zu der bei den ChE beobachteten Autokatastase stehen. Die Art der komplexen Wirkung von Atropin an der ChE ähnelt in vieler Hinsicht dem in vivo-Verhalten des Pharmakons, unter anderem die auch von uns immer wieder beobachtete Tatsache, daß Atropin die Wirkung höherer ACh-Konzentrationen verstärken kann, und die offenbar auf einer Enthemmung beruht. Sehr viele in der Literatur mitgeteilten Ergebnisse und auch eigene unveröffentlichte Versuche sind nicht mit der Vorstellung in Einklang zu bringen, daß an den molekularen Receptoren

einfache Gleichgewichtsreaktionen vorliegen. Wir sollten annehmen, daß die Receptoren komplexer gebaut sind. Es scheint uns möglich, die Kinetik der Reaktionen von Pharmaka an ihren Receptoren durch das Modell der ChE dem Verständnis näher zu bringen.

Zusammenfassung.

Die Kinetik der Darm-Cholinesterasen von Meerschweinchen und ihre Beeinflussung durch Atropin wurde untersucht.

1. Die Abhängigkeit der Spaltgeschwindigkeit von der Substratkonzentration kann formal durch die Gleichung von Schaefer bei Acetylcholin, Butyrylcholin und Benzoylcholin beschrieben werden.

2. Wie früher bei der menschlichen Serum-Cholinesterase fanden wir einen recht komplexen Mechanismus der Beeinflussung der Hydrolyse von Benzoylcholin durch Atropin. Atropin beschleunigt und hemmt je nach den Konzentrationsbedingungen die Hydrolyse dieses Substrats. Das Optimum der beschleunigenden Wirkung zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Substratkonzentration.

3. Die Hydrolyse von Acetylcholin und Butyrylcholin wird durch höhere Atropinkonzentrationen (ab 10^{-4} m) gehemmt. Bei kleineren Konzentrationen ($3 \cdot 10^{-6}$ bis $3 \cdot 10^{-5}$ m) war bei verschiedenen Fermentpräparaten eine leichte Beschleunigung der Spaltung von Acetylcholin und Butyrylcholin festzustellen.

4. Die Beschleunigung der Spaltung wird auf eine Enthemmung des Fermentes zurückgeführt. Die Befunde werden auf der Grundlage früher entwickelter Vorstellungen diskutiert. Sie stützen die von Schaefer vorgeschlagene Kinetik der Cholinesterasen.

5. Es wird auf die Schwierigkeit hingewiesen, über die Beeinflussung von Cholinesterasen durch reversible Hemmstoffe etwas eindeutiges auszusagen, wenn nicht die Konzentrationsbedingungen weitgehend variiert wurden.

Literatur.

[1] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933). — [2] Haldane, J. B. S., u. K. G. Stern: Allgemeine Chemie der Enzyme. Dresden und Leipzig 1932. — [3] Hardegg, W., u. H. Schaefer: Pflügers Arch. **255**, 136 (1952). — [4] Hardegg, W., u. R. Poche: Klin. Wschr. **1952**, 799. — [5] Hardegg, W., W. Raule u. H. Schaefer: Acta physiol. scand. (Stockh.) **29**, 50 (1953). — [6] Hardegg, W., E. Rieken u. H. Schmalz: Pflügers Arch. **259**, 317 (1954). — [7] Hawkins, R. D., and J. M. Gunter: Biochemic. J. **40**, 192 (1946). — [8] Michaelis, L., u. M. L. Menten: Biochem. Z. **49**, 333 (1913). — [9] Schaefer, H.: Pflügers Arch. **249**, 405 (1947). — [10] Schaefer, H., u. E. Maier: Biochem. Z. **319**, 420 (1949).

Dr. Wolfgang Hardegg, Heidelberg, Physiologisches Institut, Akademiestr. 3.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 66—77 (1955).

Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. J. Kühnau).

Chemische Ausschaltung der A-Zellen der Langerhansschen Inseln.

Von
C. v. Holt, L. v. Holt, B. Kröner und J. Kühnau*.

Mit 6 Textabbildungen, davon 4 farbigen.

(Eingegangen am 30. Juni 1954.)

Die Ergebnisse der Pankreatektomie[30], der Unterbindung des Ausführungsganges des Pankreas[35], sowie die Möglichkeit der Zerstörung der B-Zellen durch Alloxan[10], haben es bedingt, daß das Pankreas in der experimentellen Diabetesforschung nur unter dem Gesichtspunkt der Insulinproduktion und des Verhaltens der B-Zellen betrachtet wurde. Obwohl der Folgezustand nach Pankreatektomie am alloxandiabetischen Tier[39], die Parabioseversuche von Foà u. Mitarb.[13, 14], Untersuchungen von Young u. Bornstein[4] und von Bürger[6], sowie die Kristallisation des Glucagons durch Staub u. Mitarb.[36] auf eine zweite endokrine Funktion des Pankreas hinwiesen, waren der experimentellen Erforschung dieses zweiten endokrinen Systems bisher Grenzen gesetzt. Durch die nahen topographischen Beziehungen zwischen inkretorischem Inselparenchym und exkretorischem Pankreasgewebe wurde die Deutung der Ergebnisse nach Pankreatektomie erschwert[31, 8]. Die Arbeiten von Sutherland u. De Duve[38] sowie von Gaede, Ferner u. Kastrup[18] engten per exclusionem den Ursprung des zweiten Pankreashormons auf die A-Zellen ein.

Weitere Untersuchungen über die endokrinologische Bedeutung dieses Zellsystems ließen sich praktisch nicht durchführen, da seine selektive Ausschaltung bisher nicht möglich war. Versuche, die A-Zellen des Meerschweinchens mit Kobaltsalzen zu schädigen[7], haben bei Nachuntersuchungen am Kaninchen[1, 19, 22, 24] zu einander widersprechenden Ergebnissen geführt. Die Verschiedenartigkeit der bei den Kobaltversuchen erhaltenen Befunde hat eher zu Verwirrung Anlaß gegeben, als zu einer Klärung der Bedeutung der A-Zellen beigetragen, zumal von verschiedenen Autoren wesentliche extrainsuläre Wirkungen bei der gesetzten Kobaltintoxikation nachgewiesen wurden[22, 24, 28, 11].

Unter den zahlreichen blutzuckersenkenden Verbindungen, die in der Literatur[25] beschrieben sind, waren vor allem 2 wegen der Schwere der von ihnen erzeugten Hypoglykämie einer deletären Wirkung auf die

* Für die Gewährung einer Sachbeihilfe danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

A-Zellen verdächtig: das von Frank[16] für die Diabetestherapie vorgeschlagene Synthalin A, sowie das von Vonkennel u. Kimmig[41] dargestellte p-Aminobenzolsulfonamidisopropylthiodiazol (IPTD), dessen blutzuckersenkende Eigenschaft von Janbon u. Mitarb.[26], Loubatières[29], Bovet u. Dubost[5], sowie La Barre u. Reuse[27] beschrieben wurde. Im Falle des Synthalins konnte Davis[9] den Nachweis erbringen, daß dieser Stoff tatsächlich die A-Zellen schädigt.

In der vorliegenden Arbeit werden Untersuchungen über die Wirkung des IPTD auf den Blutzucker und die A-Zellen der Langerhansschen Inseln des Kaninchens und der Ratte mitgeteilt. Wegen der grundsätzlichen Bedeutung wurden die Angaben von Davis in gleichartig angelegten Versuchen einer Nachprüfung unterzogen.

Experimentelles.

Die Versuche wurden an Kaninchen gemischter Rasse nach 12 Std Nahrungskarenz und männlichen Albinoratten eines Laborinzuchtstammes vorgenommen.

Die IPTD*-Dosis betrug beim Kaninchen 1 bzw. 2 g/kg Körpergewicht, bei der Ratte 0,6—1,25 g/kg, mit 2 n NaOH zur Lösung gebracht (p_H 7,6—8,0). Als günstigste Applikationsart erwies sich beim Kaninchen die orale, bei der Ratte die intraperitoneale Zufuhr.

Synthalin A (Decamethylendiguanidin) injizierten wir in salzsaurer, wäßriger Lösung p_H 3,5 bei Kaninchen in Dosen von 6 mg/kg Körpergewicht intramuskulär, bei Ratten in solchen von 15 mg/kg intraperitoneal.

Blutzuckerbestimmungen erfolgten beim Kaninchen nach der Methode von Hagedorn-Jensen[21], bei der Ratte nach der von Frank u. Kirberger[17]**. Zur Unterbrechung bedrohlicher, hypoglykämischer Zustände wurde Glucose (10%ig) in physiologischer Kochsalzlösung parenteral und oral in verschiedenen Mengen gegeben.

Die histologische Untersuchung der Langerhansschen Inseln des Pankreas erfolgte nach der von Gomori[20] angegebenen Technik. Die A-B-Relation ermittelten wir durch Auszählung der Inselzellen bei 800facher Vergrößerung an 30 Inseln pro Schnitt (Dicke 3—5 μ), wobei die Gesamtzahl der registrierten Zellen (durchschnittlich 1400) gleich 100% gesetzt wurde***.

Ergebnisse.

Das Verhalten des Blutzuckers von Kaninchen nach der einmaligen oralen Zufuhr von 1 bzw. 2 g IPTD/kg ist in der Tab. 1 wiedergegeben. Bei 43 von 44 Tieren kam es im Verlauf von 24 Std zu einem in fast allen Fällen langdauernden, mehr oder minder tiefen Blutzuckerabfall, der bei 8 Versuchstieren zum ein- oder mehrmaligen hypoglykämischen

* Für die großzügige Bereitstellung der Verbindung sind wir Herrn Prof. Dr. Dr. J. Kimmig zu großem Dank verpflichtet.

** Für zuverlässige technische Assistenz danken wir Frau A. Kemnitz und Frl. I. Hallmann.

*** Herrn Prof. Dr. H. Ferner möchten wir für Ratschläge bei der histologischen Beurteilung und wertvolle Diskussionen danken.

Tabelle 1. *Nüchternblutzuckerwerte und Verhalten des Blutzuckers 2—24 Std nach der oralen Gabe von 1 g (*) bzw. 2 g (**) IPTD/kg Körpergewicht bei 44 Kaninchen* (2—3 kg schwer).

′ = Schock;

☩ = Zeitpunkt des Todes ( ) Std nach der Sondierung.

Kaninchen Nr.	Nü	2	4	6	8	12	13—21	22—24 Std
244*	99	58	66	61	—	—	—	107
257*	118	108	88	84	63	—	—	60
285*	128	—	—	—	—	—	51	63
286*	124	—	—	—	—	—	50	95
258*	73	63	59	41	—	—	59	64
287*	125	87	78	64	77	—	—	75
266*	121	93	93	95	77	70	—	59
277*	113	77	82	69	69	65	—	72
282*	118	77	88	71	34	37′	—	44
284*	111	80	64	62	41	28′	32′	35
20*	90	56	58	51	43	—	—	118
22*	136	110	80	68	78	111	—	107
23*	126	77	66	56	65	62	—	113
24*	107	107	103	93	84	72	—	75
25*	103	81	65	58	61	48	—	45
26*	107	97	72	74	69	65	—	98
27*	120	90	81	64	68	89	—	124
29*	147	107	105	99	80	75	—	120
30*	115	102	68	72	72	65	—	91
31*	109	68	58	54	59	59	—	90
290**	143	94	96	81	76	73	—	45′
289**	143	241	272	109	33′	☩		
254**	100	—	—	—	—	—	42	115
248**	120	70	77	—	—	45	37	44
251**	134	83	77	52	56	—		79
18**	111	70	75	77	64	67	42′	61
19**	107	86	71	80	63	58	50′	73
28**	158	112	162	—	72	☩ (10)		
32**	150	91	88	93	84	80	77	111
33**	107	65	86	72	62	67	39′	—
34**	117	112	124	83	67	85	73	72
35**	133	99	109	86	80	67	84	79
36**	93	126	135	94	62	33′	42′	☩ (22)
12**	97	152	210	—	107	☩ (10)		
14**	115	88	85	—	—	79	—	62
15**	182	192	56	45	☩ (6)			
37**	121	85	95	—	95	—	—	112
38**	102	74	94	—	67	63	31	40
39**	124	143	101	—	107	80	81	95
40**	94	87	—	67	82	61	57	95
41**	122	107	—	94	98	76	70	76
42**	135	138	—	147	135	98	55	60
43**	144	110	—	107	116	87	112	96
44**	82	117	—	151	112	116	75	67

Schock führte (siehe Abb. 1). 5 mit 2 g IPTD behandelte Kaninchen zeigten einen der Hypoglykämie vorangehenden Blutzuckeranstieg über 15 mg%.

Die wiederholte, zum Teil in mehrtägigen Abständen erfolgende Zufuhr von 1 g IPTD/kg bei 6 Kaninchen führte jedesmal zu der Entwicklung eines der ersten hypoglykämischen Reaktion etwa gleichenden Blutzuckerabfalles. Lediglich das Tier 272 (siehe Tab. 3) kam 2 Std nach der 4. Gabe mit einem Blutzuckerwert von 178 mg% ad exitum.

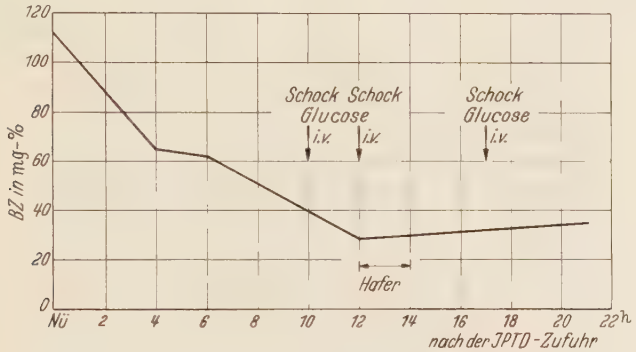


Abb. 1. Blutzuckerverlauf bei einem Kaninchen (Nr. 284) nach der oralen Gabe von 1 g IPTD/kg.

Zur histologischen Beurteilung und Ermittlung der A-B-Relation der LANGERHANSschen Inseln wurden die in Tab. 2 und 3 aufgeführten Tiere herangezogen. (Die Mehrzahl der übrigen IPTD-behandelten Kaninchen erhielt anschließend Alloxan. Die an diesen Tieren erhobenen Befunde werden in einer späteren Arbeit mitgeteilt.) Es fand sich bei den in Tab. 2

Tabelle 2. *A-B-Relationen von 15 1mal mit 2 g IPTD/kg behandelten Kaninchen.*

Kaninchen Nr.	% A-Zellen	% B-Zellen	Zeitpunkt des Todes (*) bzw. der Tötung (o) in Std nach der IPTD-Gabe
12	5	95	10 (*)
14	6	94	52 (o)
15	2	98	6 (*)
28	0	100	10 (*)
36	3	97	22 (*)
37	8	92	52 (o)
38	3	97	26 (o)
39	3	97	26 (o)
40	4	96	26 (o)
41	2	98	26 (o)
42	2	98	26 (o)
43	4	96	26 (o)
44	4	96	26 (o)
251	4	96	24 (o)
290	0	100	28 (*)

genannten Tieren ausnahmslos eine weitgehende Reduktion der A-Zellen, in 2 Fällen ein vollständiger Verlust. (Normale Kaninchen weisen eine A-B-Relation von 20—25% A-Zellen und 75—80% B-Zellen auf[12].)

In den meisten Inseln war die Resorption der A-Zellen so weit fortgeschritten — möglicherweise zu erklären durch die dichte periphere Inselcapillarisierung beim Kaninchen — daß sich lediglich B-Zellen nachweisen ließen. In einigen Inseln jedoch fanden sich in der Peripherie phloxinhyperchromatische, teils homogen, teils schollig strukturierte Bezirke und Kernreste (siehe Abb. 2). Vereinzelt lagen am Inselrand

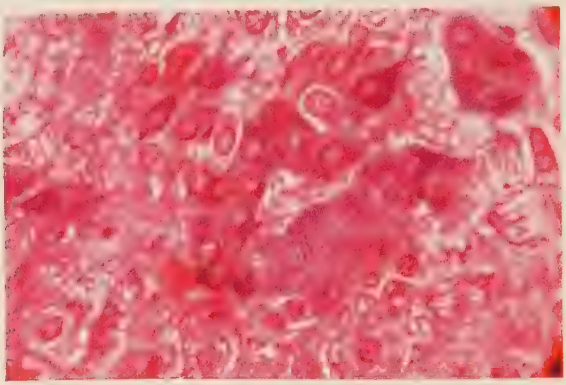


Abb. 2. Kaninchen insel (Kan. Nr. 251) 24 Std nach der oralen Gabe von 2 g IPTD/kg. Gomori-Färbung. Vergrößerung 900fach.

vollständig degranulierte, keinem bestimmten Zelltyp zuzuordnende Zellen. Die B-Zellen waren dicht mit blauen Granula erfüllt, die Kern-Plasma-Relation schien im Vergleich zu unbehandelten Tieren zugunsten des Kernes verschoben zu sein. Bei einigen Tieren fanden sich die Granula der B-Zellen vorwiegend in der Peripherie, häufiger an den capillarnahen Polen, zu einem schmalen Saum zusammengedrängt (siehe Abb. 2). Die Verminderung der A-Zellen war bei längerer Überlebenszeit (siehe Kaninchen 14 und 37, Tab. 2) nicht so ausgesprochen.

Tabelle 3. *A-B-Relationen von 6 wiederholt mit 1 g IPTD/kg behandelten Kaninchen.*

Kaninchen Nr.	Gesamt-IPTD-Zufuhr in g/kg ( ) = Behandlungszeit in Tagen		% A-Zellen	% B-Zellen	Zeitpunkt des Todes (*) bzw. der Tötung (o) in Stunden nach der letzten IPTD-Gabe
257	2	(2)	6	94	22 (o)
285	2	(2)	8	92	9 (o)
258	2	(2)	5	95	23 (o)
272	4	(4)	16	84	2 (*)
254	6	(35)	13	87	5 (o)
244	22	(51)	22	78	3 (o)

Bei den letzten drei in Tab. 3 angeführten Tieren näherte sich die A-B-Relation trotz anhaltender IPTD-Behandlung normalen Werten. Das histologische Bild des Pankreas dieser Tiere zeichnete sich durch das gleichzeitige Vorkommen von A-Zell-freien Inseln, A-Zell-Trümmern und Inseln mit normal erscheinendem A-Zell-Besatz aus.

Bei 18 untersuchten Ratten führte die intraperitoneale Injektion von IPTD gleichfalls zu in den meisten Fällen tiefen Blutzuckersenkungen. Häufiger als beim Kaninchen ging der Hypoglykämie ein Blutzuckeranstieg voran (siehe Tab. 4). Auf Grund der bisherigen Befunde scheint die bei der Ratte wirksame IPTD-Dosis altersabhängig zu sein.

Tabelle 4.

Blutzuckerverhalten von 18 Ratten 2—24 Std nach der intraperitonealen Injektion von 0,6—1,25 g IPTD/kg Körpergewicht. - - = Schädigung der A-Zellen aller Inseln; × = Schädigung der A-Zellen vieler Inseln; + = Schädigung der A-Zellen einzelner Inseln; a = histologisch nicht untersucht.

Ratte Nr.	Gew. in g	IPTD-Dosis in g/kg i.p.	BZ in mg-% vor d. Injekt.	2	4	6	8	10	24	( ) = Tod (*) bzw. Tötung (o) in Std n. der Injektion	Grad der A-Zellschädigg.
				Std nach der Injektion							
28	145	0,6	108	141	120	—	108	—	84	(33o)	
44	350	0,75	72	50	50	47	39	—	70	(34*)	- -
47	420	0,75	68	108	164	165	81	—	70	(28o)	
48	440	0,75	74	54	27	28	—	—	30	(28o)	- -
49	230	0,8	97	114	37	47	—	52			a
29	145	1,0	101	135	68	—	110	—	51	(33o)	
32	345	1,0	95	31	—	8	0			(8*)	
53	200	1,0	107	44	24	32	29	21	24	(24o)	- -
54	200	1,0	95	109	118	75	51	36	74	(24o)	- -
56	240	1,0	94	108	49	22	—	—		(13*)	- -
57	200	1,0	121	215	171	31	32	17		(21*)	- -
58	180	1,0	122	209	151	102	110	—	90	(25o)	
59	220	1,0	91	162	117	82	74	—	75	(25o)	
60	200	1,0	109	254	170	72	85	—	62	(25o)	- -
61	200	1,0	110	184	146	81	96	—	46	(25o)	
62	200	1,0	100	190	155	56	66	—	26	(25o)	- -
63	200	1,0	107	130	112	43	62	—	71	(25o)	- -
51	200	1,25	86	32	—	25				(7*)	- -

Histologisch fand sich bei 10 von 17 Ratten eine komplette Degranulierung fast aller A-Zellen. In vielen Inseln ließ sich färberisch kein Plasma der A-Zellen mehr nachweisen. Es entstand so häufig der Eindruck, daß die A-Zellen-Kerne in der Inselperipherie in optisch leeren Bezirken lagen. Die A-Zellenkerne erschienen vereinzelt hyperchromatisch (Abb. 3). In einigen Inseln fanden sich phloxinhyperchromatische, schollige Plasmabezirke in der Peripherie. Sehr selten ließen sich normal tingierte A-Zellen nachweisen. Die Resorption der geschädigten A-Zellen

war jedoch in dem untersuchten Stadium, verglichen mit Kaninchen, nicht so weit fortgeschritten, möglicherweise auf Grund der unterschiedlichen Capillarisierungsverhältnisse bei Ratte und Kaninchen[12]. Lediglich kleinere Inseln bestanden häufiger als bei unbehandelten Ratten nur

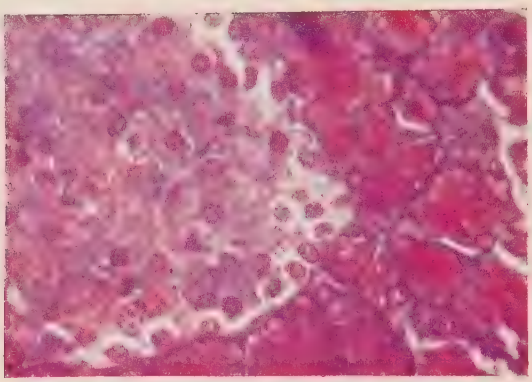


Abb. 3. Ratteninsel (Ra. Nr. 44) 34 Std nach der intraperitonealen Injektion von 0,75 g IPTD/kg. Gomori-Färbung. Vergrößerung 600fach.

noch aus B-Zellen. Bei 6 Ratten ließen mehrere Inseln die geschilderten Veränderungen vermissen, während ein Tier nur vereinzelt geschädigte A-Zellen aufwies.

6 Kaninchen erhielten 6 mg Synthalin A/kg Körpergewicht i.m. Bei 5 Tieren traten die von verschiedenen Autoren[34, 2, 3, 9] beschriebenen

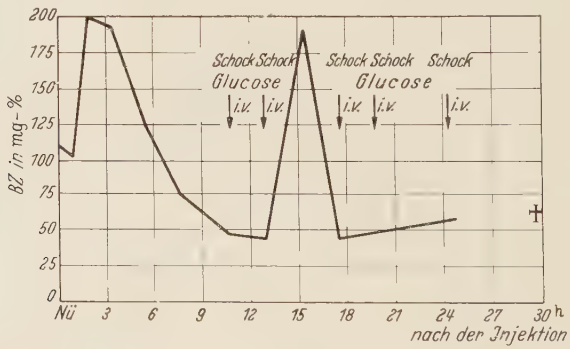


Abb. 4. Blutzuckerverlauf bei einem Kaninchen (Nr. 275) nach der Injektion von 6 mg Synthalin/kg i.m.

initialen Blutzuckersteigerungen mit nachfolgenden mehr oder minder tiefen Hypoglykämien und Schocks auf (siehe Abb. 4). Das Ausmaß der Degranulierung der A-Zellen erwies sich als abhängig, wie auch von Davis[9] mitgeteilt, von der Überlebenszeit der Tiere. Darüber hinausgehend konnten zahlreiche Kernpyknosen und nach 23 bzw. 30 Std

im Anschluß an die Synthalingabe bei 2 Kaninchen ein völliger Verlust der A-Zellen nachgewiesen werden (Abb. 5). Ein Tier dieser Gruppe, das keine Blutzuckerveränderungen gezeigt hatte, wies auch an den Inseln keine pathologischen Veränderungen der A-Zellen auf.

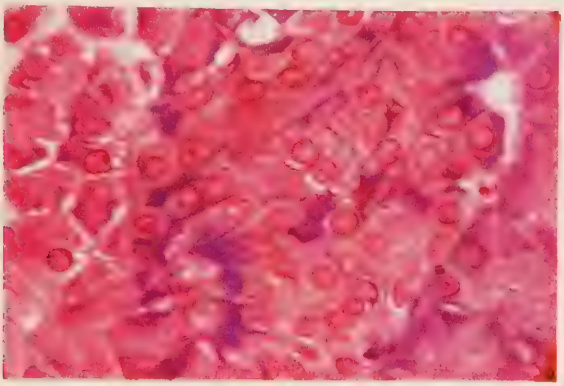


Abb. 5. Kaninchencinsel (Kan. Nr. 275) 30 Std nach der i.m. Injektion von 6 mg Synthalin/kg. Gomori-Färbung. Vergrößerung 900fach.

Nach der intraperitonealen Injektion von 15 mg Synthalin/kg bei 12 Ratten kam es ebenfalls zu tiefen, langanhaltenden Blutzuckersenkungen (siehe Tab. 5) ohne vorhergehenden Anstieg.

Die histologische Kontrolle der Langerhansschen Inseln ergab eine vollständige Degranulierung fast aller sichelförmig in der Inselperipherie

Tabelle 5. *Blutzuckerverhalten von 12 Ratten nach der intraperitonealen Injektion von 15 mg Synthalin/kg Körpergewicht.*
- - = Schädigung der A-Zellen aller Inseln. × = Schädigung der A-Zellen vieler Inseln;

Ratte Nr.	Gew. in g	BZ in mg-% vor	BZ in mg-% 3 Std nach	Tiefster BZ in mg-% ( ) = Std nach	BZ in mg-% 24 Std nach	Zeitpunkt des Todes (*) bzw. der Tötung (o) Std nach	Grad der A-Zellschädigung
		der Injektion von 15 mg Synthalin/kg intraperitoneal					
1	210	93	41	21 (8)	36	27 (o)	- -
2	225	88	48	14 (4)	46	27 (o)	- -
12	295	85	2	2 (3)	—	4 (*)	- -
16	295	106	17	8 (11)	32	24 (o)	- -
17	295	75	13	11 (11)	21	24 (o)	-
39	210	109	36	36 (3)	—	8 (*)	-
40	185	103	22	12 (8)	—	14 (*)	
41	210	93	16	12 (8)	10	25 (*)	- -
42	220	87	30	30 (3)	95	28 (o)	-
43	215	89	13	13 (3)	91	28 (o)	- -
45	210	89	24	24 (3)	71	52 (o)	- -
46	190	85	25	15 (8)	33	52 (o)	- -

angeordneten A-Zellen (siehe Abb. 6). Die Kerne waren verkleinert und zum Teil hyperchromatisch. In den meisten Inseln fand sich färberisch kein Zellplasma in den A-Zellbezirken. In vielen kleineren Inseln war die Resorption der nekrotischen A-Zellen so weit fortgeschritten, daß sich lediglich normal angefärbte B-Zellen nachweisen ließen.

Sowohl dem IPTD als auch dem Synthalin schien neben der deletären Wirkung auf die A-Zellen eine allgemein toxische Komponente anzuhaften. So kam es bei einigen „IPTD-Kaninchen" noch vor Eintritt der

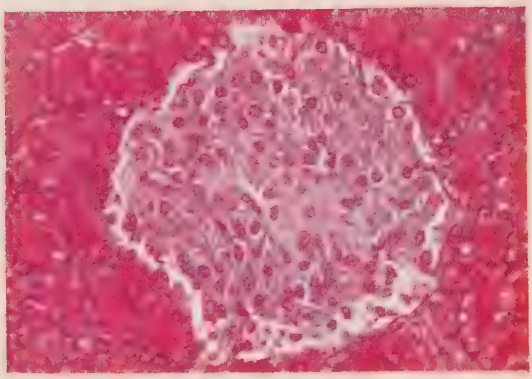


Abb. 6. Ratteninsel (Ra. Nr. 46) 52 Std nach der intraperitonealen Injektion von 15 mg Synthalin/kg. Gomori-Färbung. Vergrößerung 400fach.

Hypoglykämie zu einem Tonusverlust der Muskulatur oder zentralnervösen Reizerscheinungen in Form von Krämpfen. Die nach beiden Verbindungen zuweilen beobachteten, anscheinend vorwiegend degenerativen Nierenschädigungen wurden nicht näher untersucht.

Diskussion.

Auf Grund der in der Literatur berichteten Befunde über die Existenz und Isolierung eines insulinantagonistischen zweiten Pankreashormons, für dessen Bildung die A-Zellen verantwortlich gemacht werden, liegt es nahe, die gefundenen Blutzuckerveränderungen nach IPTD und Synthalin und die gleichzeitig auftretende A-Zellzerstörung kausal miteinander in Beziehung zu bringen. Die generell durch 2 chemisch völlig verschieden strukturierte Verbindungen sowohl bei Kaninchen als auch bei Ratten ausgelöste schwere Hypoglykämie bei gleichem morphologischem Befund ließe sich als Folgezustand des Ausfalles des A-Zellsystems mit gekoppeltem funktionellem Übergewicht der insulinproduzierenden B-Zellen deuten, wobei das Ausmaß einer eventuellen zusätzlichen direkten oder indirekten Stimulierung der B-Zellen[29a] auf Grund der bisher vorliegenden Befunde nicht sicher abgegrenzt werden kann.

Die jedoch auch beim alloxandiabetischen Tier zu konstatierende Blutzuckersenkung nach IPTD und Synthalin[23] weist allerdings auf den A-Zellausfall als wesentlichen Faktor hin. Die bei wiederholter IPTD-Zufuhr am gesunden Kaninchen wiederauftretende Hypoglykämie könnte einerseits der Ausdruck einer unmittelbaren B-Zellreizung sein, andererseits durch einen erneuten Zerfall von A-Zellen mit daraus resultierender Störung der endokrinen Balance und temporärem Übergewicht des Insulins hervorgerufen werden. Wenn es tatsächlich nach wiederholten IPTD-Gaben zu wiederholtem A-Zellzerfall kommt, so läßt sich schwer entscheiden, ob dabei A-Zellen untergehen, die die vorangehende Dosis überdauert haben, oder ob es sich um inzwischen regenerierte Zellen handelt. Daß eine Neubildung von A-Zellen in einem relativ kurzen Zeitraum erfolgen kann, ist in verschiedenen Versuchsanordnungen bereits früher gezeigt worden[40, 22, 32, 21, 42]. Die bei längerer IPTD-Zufuhr normalen Werten zustrebende A-B-Relation weist möglicherweise auf diese Regenerationsfähigkeit des A-Zellsystems hin.

Die Klärung der Frage, ob die zuweilen bei „IPTD-Kaninchen" und meistens bei „IPTD-Ratten" sowie „Synthalin-Kaninchen" der Hypoglykämie vorangehende Hyperglykämie auf eine bei dem A-Zellzerfall auftretende Freisetzung von Glucagon oder extrapankreatische bzw. unspezifische Faktoren zurückzuführen ist, bleibt weiteren Untersuchungen überlassen. Eine weitgehende Verminderung des Glucagongehaltes der Bauchspeicheldrüsen nach Synthalin wurde von Fodden[15] am Kaninchen nachgewiesen.

Mit unseren Untersuchungen und denen von Davis[9] scheint die Frage nach dem Angriffspunkt des Synthalins und wirkungsverwandter, per os blutzuckersenkend wirkender Substanzen im Sinne einer Ausschaltung der A-Zellen des Inselapparates geklärt zu sein. In gleicher Richtung weist auch der Befund von Ralli u. Tiber[33], daß die Hypoglykämie-erzeugenden Guanidinderivate nur in Gegenwart von Pankreasgewebe wirksam sind. Die Angabe[16], daß Synthalin auch am pankreaslosen Tier blutzuckersenkend wirkte, konnte somit in dieser allgemeingültigen Form nicht bestätigt werden. Gelegentlich bei Anwendung sehr hoher Synthalindosen beim pankreaslosen Tier beobachtete Hypoglykämien sind möglicherweise unspezifisch durch hepatotoxische Effekte[31, 37] bedingt.

Die beschriebenen Blutzuckerveränderungen und histologischen Befunde nach IPTD und Synthalin deuten darauf hin, daß dem morphologischen Dualismus der Langerhansschen Inseln ein funktioneller Antagonismus bezüglich der Steuerung der für den Organismus optimalen Blutzuckerkonzentration entspricht.

Da es gelingt, die A-Zellen der Langerhansschen Inseln sowohl durch IPTD als auch durch Synthalin selektiv zu zerstören, ist die Möglichkeit gegeben, mit Hilfe der chemischen Ausschaltung der A-Zellen

ihre endokrine Bedeutung sowie die Rolle des von ihnen produzierten Wirkstoffes in bestimmten Stoffwechselsituationen, wie z. B. beim Diabetes oder Wachstum, zu untersuchen.

Zusammenfassung.

1. Die orale Zufuhr von 1 g bzw. 2 g p-Aminobenzolsulfonamidisopropylthiodiazol/kg Körpergewicht führt am Kaninchen zu tiefen, langanhaltenden Hypoglykämien. An den Langerhansschen Inseln finden sich schwere, degenerative Veränderungen der A-Zellen mit einer erheblichen numerischen Verminderung dieser Zellen, die bis zum vollständigen Verlust gehen kann.

2. Die intraperitoneale Injektion von 0,6—1,25 g p-Aminobenzolsulfonamidisopropylthiodiazol/kg Körpergewicht löst bei der Ratte ebenfalls schwere Blutzuckersenkungen aus. Die A-Zellen weisen stark ausgeprägte Schädigungen auf, gekennzeichnet durch vollständigen Verlust der Granula, sowie Hyperchromasie und Pyknose der Kerne.

3. Die von Davis[9] am Kaninchen erhobenen Befunde über die A-Zell-schädigende Wirkung des Synthalins A werden bestätigt.

4. Die intraperitoneale Injektion von 15 mg Synthalin A/kg Körpergewicht bewirkt bei der Ratte eine tiefe, langdauernde Hypoglykämie und ebenso wie das p-Aminobenzolsulfonamidisopropylthiodiazol schwerste Schädigungen der A-Zellen.

Literatur.

[1] Avezzu, G., e R. Luise: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **27**, 1515 (1951). — [2] Bertram, F.: Dtsch. Arch. klin. Med. **158**, 76 (1927). — [3] Bodo, R., and H. P. Marks: J. of Physiol. **65**, 83 (1928). — [4] Bornstein, J., E. Reid and F. G. Young: Nature (Lond.) **168**, 903 (1951). — [5] Bovet, D., et P. Dubost: C. r. Soc. Biol. (Paris) **88**, 764 (1944). — [6] Bürger, M.: Z. inn. Med. **2**, 311 (1947). — [7] Campenhout, E., v. et G. Cornelis: C. r. Soc. Biol. (Paris) **145**, 933 (1951). — [8] Candela, J. L. R.: J. Clin. Endocrin. **161**, 245 (1952). — [9] Davis, J. S.: J. of Path. **64**, 575 (1952). — [10] Dunn, J. S., H. L. Sheehan and N. G. B. McLetchie: Lancet **1943**, I 484. — [11] Ellis, S., J. H. L. Anderson and M. C. Collins: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **84**, 383 (1953). — [12] Ferner, H.: Das Inselsystem des Pankreas. G. Thieme 1952. — [13] Foà, P. P., H. R. Weinstein and J. A. Smith: Amer. J. Physiol. **157**, 197 (1949). — [14] Foà, P. P., H. R. Weinstein, E. B. Magid, M. D. Glasman and J. A. Smith: XIX. intern. physiol. Kongr. 352 (1953). — [15] Fodden, J. H., and W. O. Read: Endocrinology (Springfield, Ill.) **54**, 303 (1954). — [16] Frank, E., M. Nothmann u. A. Wagner: Klin. Wschr. **1926**, 2100. — [17] Frank, H., u. E. Kirberger: Biochem. Z. **320**, 359 (1949—50). — [18] Gaede, K., H. Ferner u. H. Kastrup: Klin. Wschr. **1950**, 388. — [19] Goldner, M. G., B. W. Volk and S. S. Lazarus: Metabolism **1**, 544 (1952). — [20] Gomori, G.: In H. Ferner, Das Inselsystem des Pankreas. G. Thieme 1952. — [21] Hagedorn, H. C., u. B. N. Jensen: Biochem. Z. **135**, 46 und **137**, 92 (1923). — [22] Holt, C. v.: I. Internat. Neuroveg. Sympos. Florenz 1953. — [23] Holt, C. v., L. v. Holt, B. Kröner u. J. Kühnau: Naturwissenschaften **41**, 166 (1954). — [24] Holt, C. v. u. L. v. Holt: Z. Naturforsch. **9b**, 319 (1954). — [25] Houssay, B. A.: J. Amer. Med. Sci. **19**, 353 (1950). — [26] Janbon u. Mitarb.: Zit. n. Bovet, D., u. P. Dubost, C. r. Soc. Biol.

(Paris) **88**, 764 (1944). — [27] La Barre, J., u. J. Reuse: Arch. néerland. Physiol. **28**, 475 (1947). — [28] Lazarus, S. S., M. G. Goldner and B. W. Volk: Metabolism **2**, 513 (1953). — [29] Loubatières, A.: C. r. Soc. Biol. (Paris) a) **88**, 766 (1944); b) **88**, 830 (1944). — [30] Mering, J. v., u. O. Minkowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **26**, 371 (1889). — [31] Mirsky, J. A., P. Futterman, J. Wachman and G. Perisutti: Endocrinology (Springfield, Ill.) **49**, 73 (1951). — [32] Müller, W.: I. internat. Neuroveg. Symp. Florenz 1953. — [33] Ralli, E. P., and A. M. Tiber: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **37**, 451 (1929). — [34] Simola, P. E.: Z. Physiol. Chem. (Leipzig) **168**, 274 (1927). — [35] Ssobolew, L. W.: Virchows Arch. **168**, 91 (1902). — [36] Staub, A., L. Sinn and O. K. Behrens: Science (Lancaster, Pa.) **117**, 628 (1953). — [37] Staub, H.: Z. klin. Med. **107**, 607 (1928). — [38] Sutherland, E. W., and C. de Duve: J. of Biol. Chem. **175**, 663 (1948). — [39] Thorogood, E., and B. Zimmerman: Endocrinology (Springfield, Ill.) **37**, 191 (1945). — [40] Volk, B. W., S. S. Lazarus and M. G. Goldner: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **82**, 406 (1953). — [41] Vonkennel, J., u. J. Kimmig: Klin. Wschr. **1941**, 2. — [42] Wolff, H.: Persönliche Mitteilung, April 1954.

Dr. C. v. Holt, Physiol.-chem. Institut d. Universität Hamburg.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 78—94 (1955).

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. J. Kühnau).

Über die Wirkung der chemischen Ausschaltung der A-Zellen der Langerhansschen Inseln auf den Alloxandiabetes.

Von

C. v. Holt, L. v. Holt, B. Kröner und J. Kühnau*.

Mit 11 Textabbildungen, davon 4 farbigen.

(Eingegangen am 15. Juli 1954.)

Seitdem die Möglichkeit besteht, durch Pankreatektomie[27] oder durch Alloxan[10] experimentell einen Diabetes zu erzeugen, sind in der Literatur zahlreiche Untersuchungen über die besonderen Stoffwechselverhältnisse bei diesen Diabetessituationen mitgeteilt worden. Viele Befunde, wie z. B. die bei beiden Diabetesformen durch Insulinzufuhr zu kompensierenden Kardinalsymptome eines Diabetes, Hyperglykämie und Glykosurie, und das Verhalten der Stickstoffbilanz[22, 23], stehen im Einklang mit der Auffassung, daß es sich in beiden Fällen um eine Stoffwechselstörung handelt, die im wesentlichen durch einen relativen oder absoluten Insulinmangel bedingt ist. Andere Befunde, wie das Auftreten einer trotz Insulinzufuhr beim pankreatektomierten Tier tödlich endenden Leberverfettung[2, 8], die beim Alloxandiabetes fehlt[41], das unterschiedliche Insulinbedürfnis pankreatektomierter und alloxandiabetischer Tiere[39, 7], die Differenzen im Verhalten der Glucoseoxydation[11, 12] und des Glykogengehaltes der Leber[28, 24, 40, 1, 26, 3], deuten darauf hin, daß zwischen beiden Diabetesarten bedeutsame patho-physiologische Unterschiede bestehen. Aus theoretischen Überlegungen heraus muß der Alloxandiabetes, der tatsächlich im wesentlichen durch den Ausfall des blutzuckersenkenden Hormons infolge selektiver Zerstörung der B-Zellen und das daraus resultierende funktionelle Übergewicht aller blutzuckersteigernden Faktoren zu erklären ist, als die weniger komplizierte Form angesehen werden, die in zahlreichen Untersuchungen als Modell gedient hat, um die Kenntnisse über das Wesen des menschlichen Diabetes zu vertiefen. Erheblich unübersichtlicher sind die Verhältnisse nach Pankreatektomie. Neben dem Ausfall des B-Zellenapparates und des von ihm produzierten Insulins kommt es zum Verlust der gleichfalls hormonbildenden A-Zellen und

* Für die Gewährung einer Sachbeihilfe danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

des sekretorischen Parenchyms. Die resultierende Stoffwechselentgleisung ist die Folge einer tiefgreifenden, komplexen Dysregulation, hervorgerufen durch den Ausfall zweier in einigen ihrer Funktionen sicherlich antagonistischer Hormone sowie des sekretorischen Drüsenparenchyms, dessen Fortfall wegen seiner Bedeutung einmal für die intestinalen Resorptionsvorgänge[29], zum anderen für den Funktionszustand der Leber[8] als ursächliches Moment für die Diabetesentwicklung nach Pankreatektomie zweifellos eine wichtige, wenn auch zur Zeit noch nicht klar erkannte Rolle spielt.

Da es gelingt, durch chemische Noxen wie p-Aminobenzolsulfonamidisopropylthiodiazol (IPTD) und Synthalin die A-Zellen der Langerhansschen Inseln des Pankreas selektiv zu zerstören[20, 21], versuchten wir, durch Anwendung dieser Substanzen in Kombination mit Alloxan[20] bei Kaninchen und Ratte eine Ausschaltung sowohl der A- als auch der B-Zellen des Inselapparates herbeizuführen und deren Wirkung auf den Organismus zu analysieren. Von dem Vergleich der bei den auf diese Weise behandelten Tieren erhobenen Befunde mit denen nach Pankreatektomie wurde ein Einblick in die Bedeutung des sekretorischen Pankreasgewebes für die Diabetesgenese erhofft.

Experimentelles.

Die Versuche wurden an 2—3 kg schweren Kaninchen gemischter Rasse und etwa 250 g schweren Albinoratten eines Laborinzuchtstammes durchgeführt.

Die Dosis des nach der Methode von Biltz[5] jeweils frisch hergestellten Alloxans betrug 150 mg/kg und wurde bei Kaninchen i.v., bei Ratten i.p. verabreicht.

IPTD*, mit 2 n NaOH zur Lösung gebracht (p_H 7,6—8,0), erhielten Kaninchen oral in Dosen von 0,75—2,0 g/kg.

Synthalin A in salzsaurer, wäßriger Lösung, p_H 3,5, wurde Kaninchen (6 mg/kg) i.m. und Ratten (15 mg/kg) i.p. injiziert.

Blutzuckerbestimmungen erfolgten am Kaninchen nach der Methode von Hagedorn-Jensen[19], an der Ratte nach der von Frank-Kirberger[15]**. Zur Unterbrechung hypoglykämischer Schockzustände wurde Glucose (10 bzw. 20%ig) in physiologischer Kochsalzlösung parenteral und oral in verschiedener Menge gegeben. Zur Prüfung der Glucosetoleranz diente die orale Belastung mit 1 g/kg an seit 12 Std nüchternen Tieren.

Die histologische Untersuchung der Langerhansschen Inseln erfolgte nach der von Gomori[18] angegebenen Technik. Eine grobe Schätzung der Insel- bzw. A-Zellhaufen-Dichte*** wurde durch Auszählung der Inseln bzw. A-Zellhaufen pro Gesichtsfeld bei einer 80fachen Vergrößerung vorgenommen. Durchschnittlich

* Für großzügige Bereitstellung der Verbindung sind wir Herrn Prof. Dr. Dr. J. Kimmig zu großem Dank verpflichtet.

** Für zuverlässige technische Assistenz danken wir Frau A. Kemnitz und Frl. I. Hallmann.

*** Unter Insel- bzw. A-Zellhaufen-Dichte verstehen wir die aus den Zählungen ermittelte, auf ein Gewebsschnittareal von 100 mm^2 umgerechnete Anzahl von Inseln bzw. A-Zellhaufen. Als A-Zellhaufen werden die nach B-Zellzerstörung durch Alloxan verbliebenen A-Zellen einer Insel bezeichnet.

kamen pro Tier 32 Gesichtsfelder zur Auswertung. Nach der Tötung der Tiere wurde eine vollständige Entnahme des Pankreas angestrebt; die Paraffineinbettung des in flach ausgebreitetem Zustand fixierten Organs erfolgte in der Weise, daß Schnitte (Dicke 3—5 μ) gewonnen werden konnten, die die Gesamtausdehnung des Gewebes erfaßten*.

Ergebnisse.

17 seit 12 Std nüchterne Kaninchen erhielten ein oder mehrmalig IPTD oral (Dosis siehe Abb. 1—3). Es traten dabei die bereits früher von uns beschriebenen Blutzuckerveränderungen auf[20, 21]. Die so vorbereiteten Tiere erhielten 24 Std nach der letzten IPTD-Gabe im Anschluß an eine 9—12stündige Nahrungskarenz eine unter sonst üblichen Versuchsbedingungen diabetogene Alloxaninjektion. Die danach beobachteten Blutzuckerverläufe sind in den Abb. 1—3 zusammengestellt worden. Auf Grund des Blutzuckerverhaltens ließen sich 3 Gruppen mit anscheinend typischen Verlaufsformen voneinander abgrenzen.

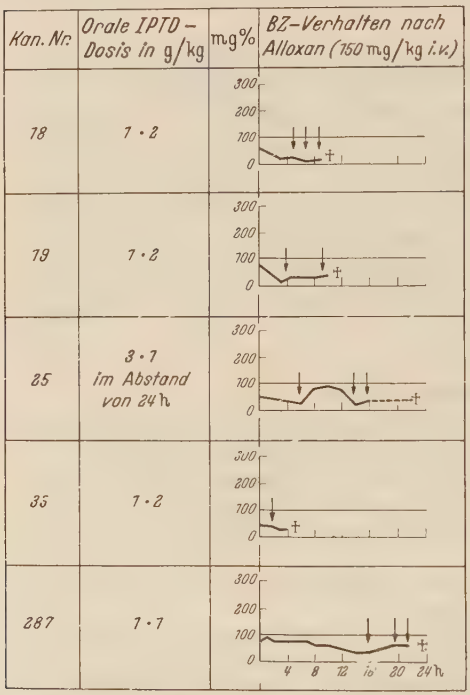


Abb. 1. (Gruppe A). Blutzuckerverhalten nach Alloxan (gegeben im Zeitpunkt 0) von 5 IPTD-vorbehandelten Kaninchen.
↓ = Schock, Glucosezufuhr, † = Zeitpunkt des Todes.

Gruppe A (siehe Abb. 1): Alle 5 Tiere dieser Gruppe zeigten unmittelbar vor der Alloxangabe einen hypoglykämischen Nüchternblutzuckerwert zwischen 35 und 75 mg%. Statt der nach Alloxan bei unvorbehandelten Tieren auftretenden initialen Hyperglykämie blieb die Hypoglykämie bestehen bzw. verstärkte sich noch. Die dabei beobachteten schweren Schockzustände führten trotz reichlicher Glucosezufuhr zum Tode in der Hypoglykämie.

Gruppe B (siehe Abb. 2): Bei 3 Tieren dieser Gruppe lag der Nüchternblutzucker vor der Alloxangabe bei hypoglykämischen Werten zwischen 44 und 59 mg%, während ein Kaninchen einen normalen Wert aufwies.

* Herrn Prof. Dr. H. Ferner möchten wir für Ratschläge bei der histologischen Beurteilung und wertvolle Diskussionen danken.

Die initiale Alloxanhyperglykämie war erheblich abgeschwächt oder fehlte ganz. Im Gegensatz zu Gruppe A entwickelte sich jedoch keine zum Tode führende Hypoglykämie, sondern der Blutzucker stellte sich nach mehr oder minder erheblichen Schwankungen auf einen annähernd normalen Wert ein. Bei keinem der Tiere dieser Gruppe kam es in dem untersuchten Zeitraum zu der Ausbildung einer für den Alloxandiabetes typischen Endhyperglykämie. Alle 4 Kaninchen wurden 28 bzw. 72 Std

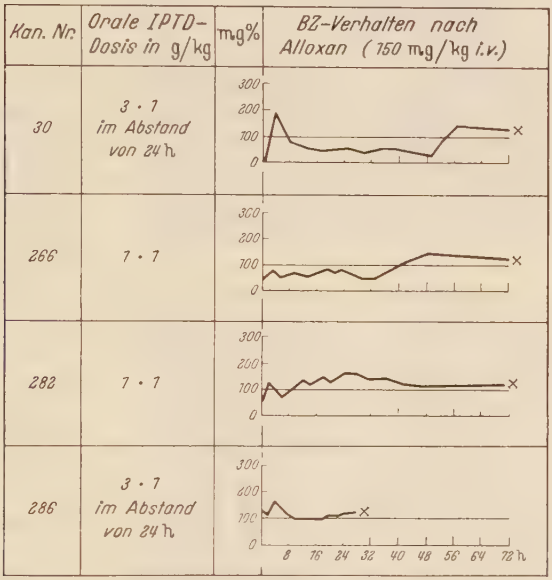


Abb. 2. (Gruppe B). Blutzuckerverhalten nach Alloxan (gegeben im Zeitpunkt 0) von 4 IPTD-vorbehandelten Kaninchen. × = Zeitpunkt der Tötung.

nach der Alloxangabe mit normalen Blutzuckerwerten zur histologischen Kontrolle getötet.

Gruppe C (siehe Abb. 3): Die Nüchternblutzuckerwerte vor der Alloxaninjektion lagen bei 6 Tieren normal bis erhöht (zwischen 100 und 174 mg%) und in 2 Fällen leicht erniedrigt (72 bzw. 79 mg%). Die initiale Alloxanhyperglykämie manifestierte sich bei allen Tieren der Gruppe C in mehr oder minder stark ausgeprägter Form mit Blutzuckerwerten von 193—470 mg%. Im Vergleich zu den übrigen Tieren dieser Gruppe zeigten die beiden Kaninchen mit erniedrigtem Nüchternblutzucker einen geringgradigeren Initialanstieg. Bei sämtlichen Tieren dieser Gruppe bildeten sich die hypoglykämische Phase und die Alloxanendhyperglykämie in der für unvorbehandelte Kaninchen etwa typischen Weise aus. Lediglich das Kaninchen Nr. 277 fiel auf durch eine sehr schwere Schockphase.

Die histologische Untersuchung des Pankreas ergab bei den Tieren der Gruppe A das Bild einer „frischen Inselnekrose". Die IPTD-Wirkung kam in einer offensichtlich erheblichen Verminderung der A-Zellen zum Ausdruck. Die wenigen noch vorhandenen A-Zellen zeigten schwere Schädigungen, gekennzeichnet durch Pyknose der Kerne und scholliges bzw. homogenes, hyperchromatisches Zellplasma. Die dissoziierten, geschrumpften B-Zellen wiesen teils homogen-hyperchromatisches, teils degranuliertes Plasma sowie pyknotische oder zerfallende Kerne auf; siehe Abb. 4. (Die Abb. 5 zeigt im Vergleich dazu eine Langerhanssche Insel mit nekrotischen B-Zellen, aber intakten, fein granulierten A-Zellen eines unvorbehandelten Kontrolltieres zum etwa gleichen Zeitpunkt nach der Alloxaninjektion.) Eine Ermittlung der A-B-Relation ließ sich in den nekrotischen Inseln nicht durchführen.

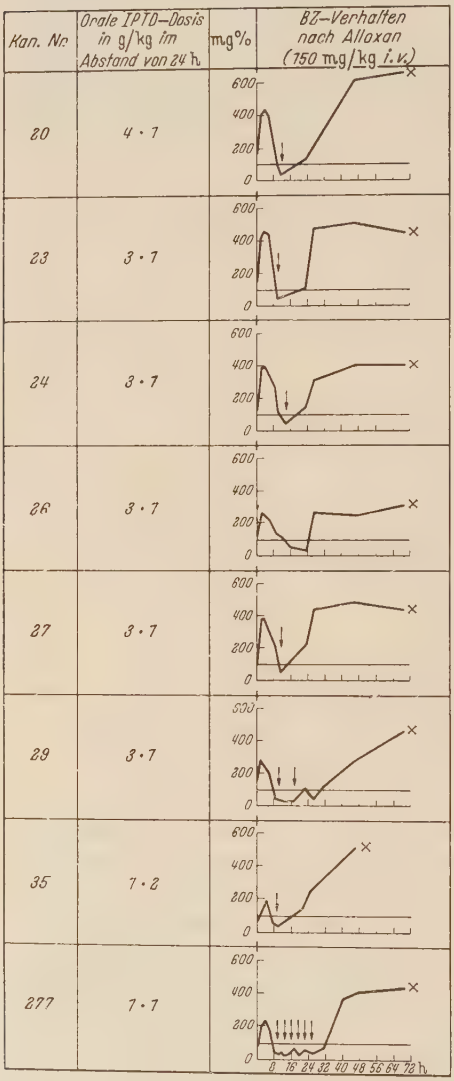


Abb. 3. (Gruppe C). Blutzuckerverhalten nach Alloxan (gegeben im Zeitpunkt 0) von 8 IPTD-vorbehandelten Kaninchen.
↓ = Schock, Glucosezufuhr. × = Zeitpunkt der Tötung.

Bei 3 Kaninchen (Nr. 30, 282, 286) der Gruppe B fand sich außer dem fast vollständigen Verlust der B-Zellen eine weitgehende Reduktion der A-Zellhaufen im Vergleich zum unkomplizierten Alloxandiabetes. Entsprechend der im Vergleich zu den Tieren der Gruppe A längeren Überlebenszeit waren sowohl die Zelltrümmer der durch IPTD zerstörten A-Zellen als auch diejenigen der durch Alloxan vernichteten B-Zellen mehr oder weniger vollständig resorbiert. Es fanden sich mit

lockeren Bindegewebsfasern, vereinzelten Capillaren und einigen Zellresten erfüllte Bezirke als Inseläquivalente (siehe Abb. 6). Bei dem Kaninchen Nr. 266 war durch das IPTD eine Schädigung nur eines Teiles

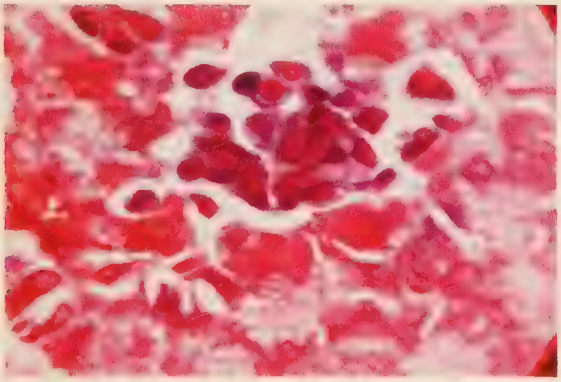


Abb. 4. Insel eines mit IPTD vorbehandelten Kaninchens (Nr. 287), 22 Std nach einer Alloxaninjektion. Gomori-Färbung. Vergrößerung 900fach.

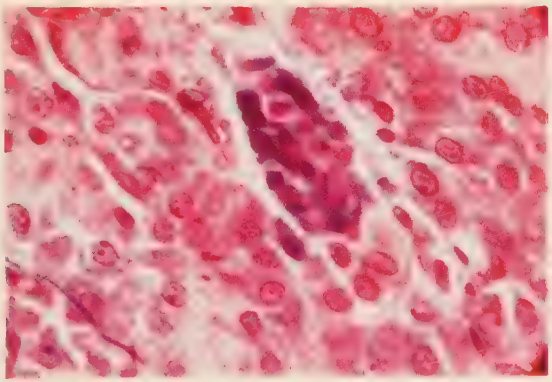


Abb. 5. Unkomplizierter Alloxandiabetes, 20 Std nach der Alloxaninjektion. Gomori-Färbung. Vergrößerung 900fach.

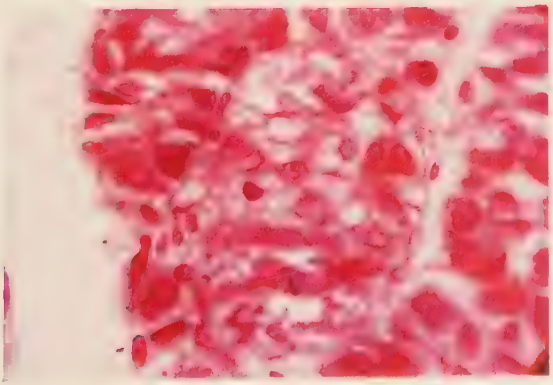


Abb. 6. Insel eines mit IPTD vorbehandelten Kaninchens (Nr. 282), 72 Std nach einer Alloxaninjektion. Gomori-Färbung. Vergrößerung 900fach.

der A-Zellen eingetreten. Neben phloxinhyperchromatischen, teils homogen, teils schollig strukturierten A-Zellbezirken mit pyknotischen Kernen und vakuolisierten A-Zellen ließen sich färberisch offenbar intakte A-Zellen nachweisen. Auch die B-Zellen waren durch die nachfolgende Alloxanwirkung nur unvollständig betroffen. Vakuolisierte, fast völlig degranulierte oder zerfallende B-Zellen mit pyknotischen Kernen fanden sich ebenso wie gut granulierte mit erhaltenen Kernen.

Die Tiere der Gruppe C boten histologisch ein dem unkomplizierten Alloxandiabetes etwa gleichendes Bild. Die A-Zellen waren gut granuliert und erschienen nicht vermindert. Selten fanden sich hyperchromatische

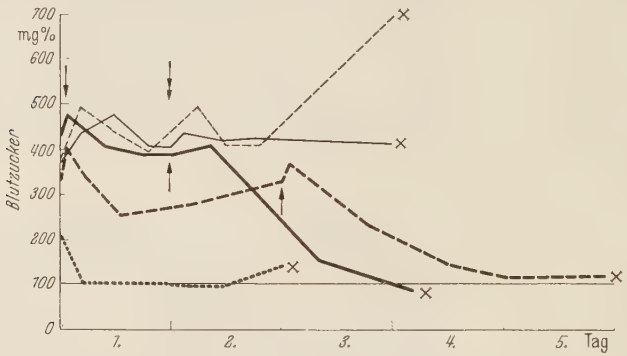


Abb. 7. Blutzuckerverhalten von 5 alloxandiabetischen Kaninchen (15 Std nüchtern) nach IPTD. – Kan. Nr. 8 (Alter des Alloxandiabetes 2 Tage), ———— Kan. Nr. 10 (Alter des Alloxandiabetes 2 Tage), — — — Kan. Nr. 279 (Alter des Alloxandiabetes 10 Tage), ——— Kan. Nr. 215 (Alter des Alloxandiabetes 10 Wochen), ----- Kan. Nr. 226 (Alter des Alloxandiabetes 3 Monate), ↓ Orale Zufuhr von 1,0 g IPTD/kg bei allen Tieren (1. Gabe), ↑ Orale Zufuhr von 1,0 g IPTD/kg bei Nr. 215 und 279 (2. Gabe), ↓ Orale Zufuhr von 0,75 g IPTD/kg bei Nr. 8 und 10 (2. Gabe), × Zeitpunkt der Tötung.

A-Zellen mit homogenem Plasma. Lediglich das Kaninchen Nr. 35 wies die genannten A-Zellveränderungen in vermehrtem Maße auf. B-Zellen ließen sich bis auf vereinzelte fast vollständig degranulierte Zellindividuen bei keinem Tier nachweisen. Als einziges IPTD-behandeltes Kaninchen zeigte Nr. 277 eine A-Zellhyperplasie. Die Verlaufsform des Alloxandiabetes wies bei diesem Tier eine auffällige Besonderheit insofern auf, als die Endhyperglykämie erst nach einem 24 Std dauernden hypoglykämischen Schockzustand eintrat, der die Ursache der möglicherweise als Regenerationsvorgang deutbaren A-Zellhyperplasie sein könnte.

5 alloxandiabetische Kaninchen wurden mit IPTD oral behandelt. Die Einzeldaten über das Alter des Alloxandiabetes, die IPTD-Dosierung und den Blutzuckerverlauf sind in der Abb. 7 angegeben. Bei 4 Tieren (Nr. 8, 10, 215 und 279) trat im Verlauf der ersten Stunden nach beiden IPTD-Gaben zunächst ein zusätzlicher Anstieg des Blutzuckers auf, dem bei 2 Tieren ein Absinken bis auf Normalwerte folgte. Die Hyperglykämie

des Kaninchens Nr. 226 normalisierte sich ohne vorangehende Blutzuckersteigerung nach einmaliger IPTD-Zufuhr, während bei 2 Tieren (Nr. 8 und 10) der Alloxandiabetes nicht im Sinne einer Blutzuckersenkung beeinflußt wurde.

Der histologische Befund der Kaninchen Nr. 215 und 279 ergab eine fast vollständige Vernichtung der B-Zellen, die sich bei Nr. 226 nicht auf alle Inseln erstreckte. Eine totale Zerstörung der A-Zellen mit einer weitgehenden Resorption der Zelltrümmer war bei den Kaninchen Nr. 226 und 279 eingetreten, während ein Tier (Nr. 215) neben zahlreichen Untergängen von A-Zellen auch färberisch intakte aufwies. Wie bei den Tieren der Gruppe B ließen sich bei den 3 erwähnten Kaninchen wabige, mit lockerem Bindegewebe und Zelltrümmern erfüllte Bezirke als Inseläquivalente nachweisen. Die Tiere Nr. 8 und 10 zeigten einen dem unkomplizierten Alloxandiabetes etwa gleichenden Inselbefund, wie er auch für die Kaninchen der Gruppe C angegeben wurde.

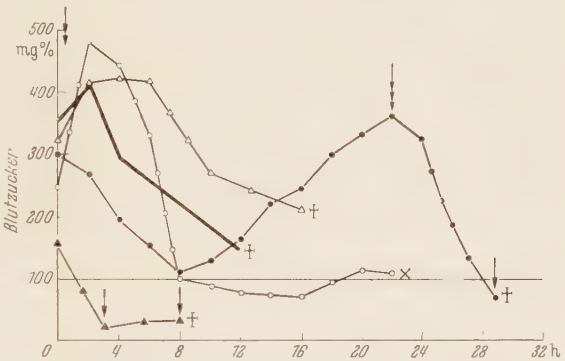


Abb. 8. Blutzuckerverhalten von 5 alloxandiabetischen Kaninchen (15 Std nüchtern) nach der Injektion von 6 mg Synthalin/kg i.m. ↓. ○—○ Kan. Nr. 1, ▲—▲ Kan. Nr. 4, •—• Kan. Nr. 5 (↓ 2. Injektion von 6 mg Synthalin/kg i.m.), —— Kan. Nr. 7, △—△ Kan. Nr. 9, × getötet, † gestorben, ↓ Schock, Glucosezufuhr.

5 alloxandiabetische Kaninchen erhielten 72 Std nach der Alloxangabe Synthalin. Die Blutzuckerverläufe sind in der Abb. 8 dargestellt. Bei 3 Tieren kam es im Anschluß an die Synthalingabe zu einem weiteren verschieden hohen Anstieg des Blutzuckers mit nachfolgendem Abfall weit unter den Ausgangswert, während der Blutzuckerspiegel von 2 Tieren ohne vorherige Steigerung auf hypoglykämische Werte abfiel. Trotz Glucosezufuhr kamen diese beiden Kaninchen (Nr. 4 nach der 1., Nr. 5 nach der 2. Synthalin-Injektion) unter Schocksymptomen ad exitum. In der Phase des Blutzuckerabfalles starben 2 Tiere bei noch erhöhtem Blutzucker, während das Kaninchen Nr. 1 22 Std nach der Injektion mit normalem Blutzuckerspiegel getötet wurde.

Bei allen 5 Tieren fand sich ein fast völliger Verlust der B-Zellen. Die A-Zellen wiesen schwerste Schädigungen auf, gekennzeichnet durch Kernpyknosen und -zerfall sowie Degranulierung, Hyperchromasie bzw. scholligen Zerfall des Plasmas. Entsprechend der Überlebenszeit war die Resorption der zerstörten A-Zellen verschieden weit fortgeschritten. Bei

Tabelle 1. *Blutzuckerverhalten und A-Zellhaufen-Dichte von 12 alloxandiabetischen Ratten nach einmaliger Synthalin-Injektion (15 mg/kg i.p.).*

Ra. Nr.	Alter d. Alloxandiabetes in Tagen	BZ in mg% vor d. Inj.	BZ in mg% nach einer Injektion von 15 mg Synthalin/kg i. p.													Zahl der A-Zellhaufen/100 mm²	Zahl der A-Zellhaufen/100 mm² bei 5 alloxandiabetischen Kontrollratten
			2h	4h	6h	8h	10h	1 T	2 T	3 T	4 T	5 T	6 T	7 T	8 T	9T	
7	6	545	446	98	35	24 ↓	—	282×	—	—	—	—	—	—	—	—	17	50
8	6	183	100	50	47	61	—	96×	—	—	—	—	—	—	—	—	3	33
5	5	482	396	270	31	37	16 ↓	62	69×	—	—	—	—	—	—	—	7	20
9	6	363	260	39	38	66	71	103	94×	—	—	—	—	—	—	—	2	50
10	6	313	171	49	37	73	83	186	73×	—	—	—	—	—	—	—	11	25
33	7	196	—	32	34	38 ↓	—	22	47+	—	—	—	—	—	—	—	0	Zahl der Inseln/100 mm² bei 3 gesunden Kontrollratten
18	6	383	72	21 ↓	73	78	35	53	80	100	117	92	121	117×	—	—	4	
19	6	255	153	31	34	61	59	55	60	76	101	123	115	141×	—	—	5	
22	6	248	54	26	27 ↓	38	27 ↓	41	79	81	87	86	121	107×	—	—	4	50
35	7	353	—	80	35	24 ↓	—	56	95	186	146	174	199	120	105	89 ×	3	50
38	7	479	—	42	42	58	—	108	164	127	118	132	150	178	175	87 ×	7	50
23	5	387	410	418	302	138	41 ↓	56	60	206	152	110	—	117	—	105		

Fortsetzg d. BZ-Verlaufes der Ratte Nr. 23

10T	11T	12T	13T	15T	16T	17T	18T	19T		
134	92	101	92	84	120	87	101	130×	2	

T = Tag bzw. Tage; × = getötet; + = gestorben; ↓ = Schockzustand, Glucosezufuhr;
□ = Blutzuckerwert nach 12 Std Nahrungskarenz.

den Tieren Nr. 1, 5 und 7 wurden lediglich Inselreste, bestehend aus vereinzelten Capillaren, Bindegewebsfasern und pyknotischen Kernen, gefunden.

17 alloxandiabetische Ratten, deren 5—7 Tage bestehender Diabetes auf Grund täglicher Blutzuckerkontrolle als stationär zu betrachten war, erhielten ein- oder mehrmalig Synthalin. Die Einzelheiten der Versuche sind in Tab. 1 und 2 angegeben. 12 Tiere (siehe Tab. 1 und Abb. 9) reagierten auf eine einmalige Injektion mit einem Blutzuckerabfall auf hypoglykämische Werte und anschließender Normalisierung (mit Ausnahme der Ratte Nr. 7) bis auf gelegentliche, teilweise allerdings erhebliche Blutzuckererhöhungen, die sich jedoch nach 12stündiger Nahrungskarenz zurückgebildet hatten (siehe Tab. 1). Die Überlebenszeit der Tiere bis zur Tötung betrug 1 bis 19 Tage. Die Ratte Nr. 33 starb nach 2tägiger Hypoglykämie trotz wiederholter Glucosegaben, während das Tier Nr. 7 einen Tag nach der Synthalin-Injektion mit diabetischem Blutzuckerwert getötet wurde. Der Allgemeinzustand der übrigen Ratten glich sich nach Überwindung der ersten

Tabelle 2. *Blutzuckerverhalten und A-Zellhaufen-Dichte von 5 alloxandiabetischen Ratten nach 1—3 Synthalin-Injektionen (15 mg/kg Körpergewicht i.p.).*

Ra. Nr.	Alter d. Alloxandiabetes in Tagen	BZ in mg% vor d. Inj.	BZ in mg% nach der 1. Synthalin-Injektion							BZ in mg% nach der 2. Synthalin-Injektion									Zahl der A-Zellhaufen/100 mm²
			2h	4h	6h	10h	1 T	2 T	3 T	2h	4h	6h	1 T	2 T	3 T	4 T	5 T	6 T	7 T	8 T	
20	6	293	315	248	173	207	95	272	203	208	66	21↓	110	181	143×	—	—	—	—	—	10
34	7	338	—	87	43	58	333	481	—	260	149	38	298	+	—	—	—	—	—	-	50
36	7	377	—	185	52	19	72	435	—	108	35	15↓	32	65	76	134	161	402	236	59×	5
37	7	328	—	265	82	66	393	343	—	265	112	36	120	134	201	93	216	335	310	76×	13
21	6	227	220	207	176	151	330	411	371	315	248	253	447	282	380	218	115	94	61	527×	33

BZ in mg-% n. d. 3. S.-Inj.: 2h | 4h | 6h | 10h | 1T

T = Tag bzw. Tage; × = getötet; + = gestorben; ↓ = Schockzustand, Glucosezufuhr; □ = Blutzuckerwert nach 12 Std Nahrungskarenz.

1—2 Tage demjenigen unbehandelter Tiere an. Die histologische Untersuchung des Pankreas ergab eine weitgehende Reduktion bis zum fast vollständigen Verlust der A-Zellhaufen (siehe Tab. 1) im Vergleich zu

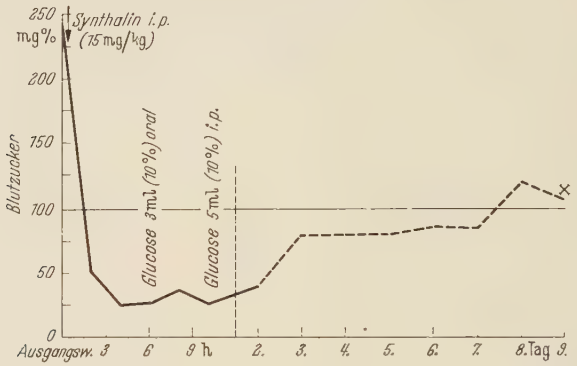


Abb. 9. Blutzuckerverhalten der alloxandiabetischen Ratte Nr. 22 nach einer Synthalin-Injektion (15 mg/kg i. p.).

unbehandelten alloxandiabetischen Kontrollen. Ähnlich wie beim Kaninchen beschrieben fanden sich auch bei der Ratte mit Bindegewebsfasern und Zellresten erfüllte Inseläquivalente (siehe Abb. 10). Entsprechend der Hyperglykämie bei der Tötung wies die Ratte Nr. 7 eine nur geringgradige Reduktion der A-Zellhaufen auf.

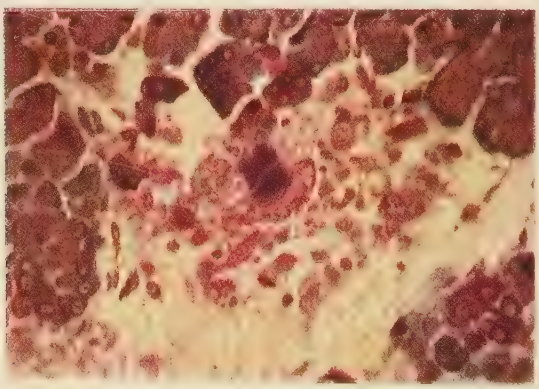


Abb. 10. Insel einer alloxandiabetischen Ratte (Nr. 5), 54 Std nach der Injektion von Synthalin. Gomori-Färbung. Vergrößerung 400fach.

5 Ratten zeigten nach der 1. Synthalin-Injektion lediglich einen vorübergehenden Blutzuckerabfall und erhielten weitere Synthalingaben (siehe Tab. 2). Der Normalisierung des Blutzuckers, besonders des Nüchternblutzuckers, bei 3 Tieren entsprach eine erhebliche Verminderung der A-Zellen, während bei 2 Tieren (Nr. 21 und 34) mit diabetischen

Blutzuckerwerten die histologische Kontrolle eine dem unkomplizierten Alloxandiabetes entsprechende A-Zellhaufen-Dichte ergab. Von den 17 mit Synthalin behandelten, alloxandiabetischen Ratten zeigten 2 einen initialen zusätzlichen Blutzuckeranstieg nach 2 bzw. 4 Std.

Bei 5 alloxandiabetischen, Synthalin-behandelten Ratten wurde bei normalen Nüchternblutzuckerwerten die Glucosetoleranz durch orale Glucosebelastung geprüft. Dabei ergab sich eine schwere Regulationsstörung, gekennzeichnet durch einen steilen Blutzuckeranstieg um 100 bis 140 mg% innerhalb der 1. Std. Der Ausgangs-Blutzuckerspiegel wurde, verglichen mit normalen Kontrollen, etwa zu dem gleichen Zeitpunkt erreicht. In Abb. 11 ist der Verlauf der Glucosebelastung der Ratte Nr. 23 als typisches Beispiel wiedergegeben.

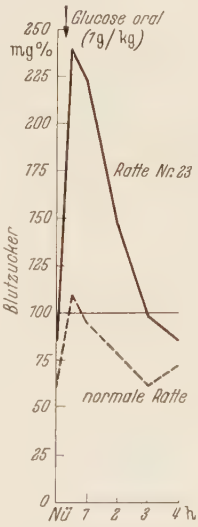


Abb. 11. Verlauf eines oralen Glucosetoleranztestes (1 g/kg) bei der Ratte Nr. 23 ( ) im Vergleich zu demjenigen einer normalen Ratte ( ).

Eine eingehende Darstellung der morphologischen Befunde, insbesondere des zeitlichen Ablaufes der Stadien der A-Zellzerstörung durch IPTD und Synthalin an gesunden und alloxandiabetischen Tieren, soll in einer späteren Mitteilung in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. H. Ferner gegeben werden.

Diskussion.

Bei den in Abb. 1 zusammengefaßten Kaninchen hat das IPTD zu einer schweren Schädigung der A-Zellen und einer weitgehenden Reduktion ihrer Zahl geführt. Die durch die Vorbehandlung entstandene hochgradige Blutzucker-Regulationsstörung kommt in den erniedrigten Nüchternblutzuckerwerten vor der Alloxaninjektion zum Ausdruck. Der Fortfall der initialen Hyperglykämie nach der Alloxangabe ist möglicherweise eine Folge der funktionellen Ausschaltung der A-Zellen durch IPTD mit daraus resultierendem Glucagonmangel, wobei einmal daran zu denken ist, daß nach Untersuchungen von Sutherland, de Duve und Cori[38, 37, 36, 34, 35] das Glucagon auf die Aktivität der Leber-Phosphorylase, die ihrerseits über die Glykogenolyse die Glucoseausschüttung aus der Leber vermittelt, einen kontrollierenden Einfluß ausübt. Zum anderen könnte ein Abbau der Leberglykogens durch das bei dem A-Zellzerfall freigesetzte Glucagon bereits erfolgt sein, so daß das für die Manifestierung der initialen Alloxan-Hyperglykämie benötigte Substrat fehlt. Die nach der Alloxangabe persistierende Hypoglykämie bzw. ihre Verstärkung, erklärt sich ebenfalls aus den Folgen der A-Zellzerstörung, wobei die Wirkung des aus den zerfallenden B-Zellen ausgeschütteten

Insulins[16, 17] additiv hinzutritt. Bei Überwindung des Stadiums der „frischen Inselnekrose" und längerer Überlebenszeit (siehe Abb. 2) ist es nicht zu der Ausbildung der diabetischen Endhyperglykämie gekommen. Besonders aufschlußreich bezüglich der Aufrechterhaltung des Blutzucker-Gleichgewichtes durch das A- und B-Zell-System erscheint das Verhalten des Kaninchens Nr. 266 (siehe Abb. 2). Auf Grund des histologischen Befundes an den B-Zellen wäre mit dem Auftreten eines leichten Alloxandiabetes zu rechnen gewesen. Die durch die IPTD-Vorbehandlung bewirkte unvollständige A-Zellzerstörung hat jedoch offenbar die Ausbildung der diabetischen Hyperglykämie verhindert. Die in diesem Fall zu verschiedenen Zeiten einsetzende, unvollständige, aber anscheinend etwa gleich umfangreiche Schädigung beider Zellsysteme hat zur Wiederherstellung des funktionellen Gleichgewichtes geführt. Hat dagegen die IPTD-Vorbehandlung die Schädigung nur einiger A-Zellen bewirkt, so bildet sich bei vollwirksamer Alloxangabe die klassische Verlaufsform des Alloxandiabetes aus (siehe Abb. 3).

Ob zur Erklärung der bei Kaninchen Nr. 277 beobachteten A-Zell-Hyperplasie das Vorhandensein einer primären Störung der A-B-Relation oder aber eine Regeneration der A-Zellen unter dem Versuch — eventuell infolge des schweren, langanhaltenden Schockzustandes — herangezogen werden darf, läßt sich nicht entscheiden.

Die alloxandiabetische Hyperglykämie unvorbehandelter Kaninchen kann durch A-Zellzerstörung mit IPTD beseitigt werden (siehe Abb. 7). Der nach der IPTD-Gabe zunächst auftretende zusätzliche Blutzuckeranstieg ist möglicherweise die Folge einer Glucagonausschüttung aus den zerfallenden A-Zellen, der bei gleicher IPTD-Dosierung durch ein intaktes[21] oder durch Alloxan nur mäßig geschädigtes (Kaninchen Nr. 226, siehe Abb. 7) B-Zellsystem offenbar abgefangen werden kann. Ein gleichartiger Entstehungsmechanismus könnte der dem Blutzuckerabfall vorangehenden Steigerung nach Synthalin bei einigen alloxandiabetischen Kaninchen zugrunde liegen. Die am Kaninchen gewonnenen Ergebnisse werden bestätigt durch die an alloxandiabetischen Ratten unter abgeänderten Versuchsbedingungen erhobenen Befunde (siehe Tab. 1 und 2), bei denen die Normalisierung der diabetischen Hyperglykämie einer weitgehenden Reduktion bzw. einem vollständigen Verlust der A-Zellhaufen parallel geht. Das Nichtauftreten einer initialen zusätzlichen Hyperglykämie in den untersuchten Zeitintervallen vor dem raschen Blutzuckerabfall nach Synthalin bei den meisten alloxandiabetischen Ratten spricht allerdings zunächst gegen den Erklärungsversuch, der oben für das Verhalten der Kaninchen in Vorschlag gebracht wurde. Die dem Vorhandensein bzw. Fehlen einer initialen Hyperglykämie zugrunde liegenden Ursachen, insbesondere die Einflüsse der Nebenniere, werden noch untersucht.

Die Koordination der in den einzelnen Versuchsgruppen erhobenen Blutzuckerbefunde mit dem histologischen Bild der LANGERHANSschen Inseln, insbesondere der A-Zellen, führt zwangsläufig zu dem Schluß, daß diesen Zellen und dem von ihnen gebildeten Glucagon eine wesentliche, ursächliche Bedeutung für das Zustandekommen der Hyperglykämie des Alloxandiabetes zuzumessen ist. Die an die Versuchsergebnisse geknüpften Überlegungen sollen keinesfalls zum Ausdruck bringen, daß lediglich eine Störung der endokrinen Balance des A-B-Zellsystems die Ursache der außerordentlich komplexen Stoffwechselsituation des Diabetes sei. Noch weniger kann bei der Beseitigung der Hyperglykämie durch A-Zellzerstörung von einer Heilung des Diabetes gesprochen werden. Denn der hormonale Defekt des Insulinausfalles mit seinen Folgen bleibt bestehen, wenn er auch bezüglich der Hyperglykämie durch die A-Zellvernichtung kompensiert erscheint. *Die mitgeteilte Normoglykämie nach Ausschaltung zweier, das Blutzuckerniveau im intakten Organismus steuernder, endokriner Zellsysteme macht die Existenz einer Primitivregulation gewisser die Blutzucker-Konzentration limitierender Stoffwechselprozesse deutlich.* Hierbei ist allerdings die Fähigkeit der Anpassung an Belastungen erheblich eingeschränkt, was aus dem abnormen Verlauf des Glucosetoleranztestes (siehe Abb. 11) und den alimentär bedingten Blutzucker-Schwankungen (siehe Tab. 1 und 2) hervorgeht. Es liegt nahe anzunehmen, daß diese phylogenetisch sehr frühzeitig nachweisbare Primitivregulation des Kohlenhydratstoffwechsels von der Leber ausgeübt wird, deren Fähigkeit zu einer autochthonen, homöostatischen Einstellung des Blutzuckerniveaus auf einen mittleren Wert durch die Untersuchungen von SOSKIN und LEVINE[33] sowie von LAZARUS und VOLK[25] wahrscheinlich gemacht wurde. Offenbar stellt diese Primitivregulation eine fundamentale, im Interesse der Aufrechterhaltung einer normalen Energieproduktion liegende Leistung des tierischen Organismus dar, die im Tierreich schon vor der Entwicklung eines in den Kohlenhydratstoffwechsel eingreifenden Inkretsystems nachzuweisen ist[31]. Mit steigenden Ansprüchen an die Erhaltung der Gleichgewichtslage im Zuckerhaushalt bilden sich im endokrinen System (Inselapparat und Nebennierenrinde) zusätzliche, übergeordnete Steuerungsmechanismen aus, die gewissermaßen die Aufgabe einer Feineinstellung und Stabilisierung des durch die Primitivregulation nur notdürftig gesicherten Gleichgewichtes im Kohlenhydratstoffwechsel haben. Daß sowohl Insulin wie Glucagon unmittelbar auf die Leber einwirken, ist bekannt[6, 30]. Nach Wegfall dieser hormonalen Steuerungsfaktoren (z. B. bei Entinselung) ist der Organismus zur Sicherstellung seiner Energieversorgung auf die basale Primitivregulation durch die Leber angewiesen, die zwar unter Ruhebedingungen hinreichend funktioniert, deren Instabilität aber bei jeder Belastung (vgl. Abb. 11) deutlich zum Ausdruck kommt. Immerhin verhält sich das insellose

Säugetier, solange solche Belastungen vermieden werden, hinsichtlich seines Kohlenhydratstoffwechsels, gemessen am Blutzucker, wie ein normales Individuum. *Die chemische Ausschaltung des Inselsystems führt somit im Gegensatz zu den Verhältnissen nach Pankreatektomie nicht zu einer permanenten diabetischen Hyperglykämie.* Angesichts dieser Tatsache erhebt sich die Frage, warum sich beim pankreaslosen Tier, dem ja das Inselsystem ebenfalls fehlt, ein Diabetes entwickelt, bei dem nach unserem Verfahren entinselten Tier dagegen nicht. Der wesentliche Unterschied beider Formen der Inselausschaltung besteht darin, daß beim pankreaslosen Tier auch der extrainsuläre (sogenannte exokrine) Pankreasanteil fehlt. Dieser Unterschied deutet auf die Möglichkeit hin, daß das extrainsuläre Pankreasparenchym an der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels und der Diabetesverhütung teilnimmt. Die reziproke Beziehung zwischen Zuckerumsatz und Fettgehalt der Leber[32] weist dem Phänomen der Leberverfettung bei Diabetes in diesem Zusammenhang eine besondere Bedeutung zu. Die fettige Infiltration und Degeneration der Leber, die bei insulinbehandelten pankreatektomierten Hunden auftritt und durch orale Gaben von Pankreas oder Pankreaspräparaten verhindert werden kann, spricht dafür, daß das extrainsuläre Pankreasgewebe hepatotrope Wirkstoffe abgibt, die für die Erhaltung noch ungenau definierter Partialfunktionen der Leber notwendig sind[2, 9]. Bereits 1926 diskutierte Macleod die Existenz eines für die funktionelle Integrität der Leber verantwortlichen Hormones im extrainsulären Pankreasanteil. Beim menschlichen Diabetes, der praktisch stets mit mehr oder minder ausgesprochenen Störungen der Leberfunktion einhergeht, bewirken Extrakte von exokrinem Pankreasgewebe eine Besserung sowohl verschiedener Partialfunktionen der Leber wie der Kohlenhydrattoleranz[4]. Es hat danach den Anschein, daß nach Pankreatektomie durch den Ausfall eines im extrainsulären Pankreasanteil produzierten hepatotropen Wirkstoffes oder Wirkstoffkomplexes die oben erwähnte Primitivregulation des Kohlenhydratstoffwechsels durch die Leber zur Entgleisung und so die diabetische Stoffwechselstörung zur Manifestation gebracht würde. Damit scheint die Hyperglykämie nach Pankreatektomie auf der Kombination des Ausfalles der Inseln und der homöostatischen Funktion der Leber zu beruhen. Ob diese Auffassung zu Recht besteht, müssen weitere Beobachtungen zeigen.

Bei einem Versuch, die erhobenen Befunde mit den gewonnenen Erkenntnissen der experimentellen Diabetesforschung in Korrelation zu bringen, müßte neben der Frage der Blutzucker-Homöostase durch die Leber auch der Nachweis eines hyperglykämisierenden Faktors in der Schleimhaut des Magen-Darmtraktes durch Sutherland und Mitarb.[38, 37] in Betracht gezogen werden. Nach Pankreatektomie bleibt das argyrophile Zellsystem der Magen- und Darmmucosa, das als vermutlicher

Entstehungsort des erwähnten Faktors angesehen wird[13], erhalten und könnte für die Hyperglykämie nach Pankreasexstirpation mitverantwortlich gemacht werden. Ob der A-Zellzerstörung durch IPTD und Synthalin eine Schädigung des argyrophilen Zellsystems der Intestinalmucosa parallel geht, wird zur Zeit untersucht. Die in diesem Zusammenhang von Fodden[14] mitgeteilten Befunde bezüglich des Synthalins erlauben keine schlüssigen Aussagen, da lediglich das Verhalten der argentaffinen Zellen geprüft wurde, die offenbar mit den Glucagonproduzierenden argyrophilen Zellen nicht identisch sind.

Eine Abgrenzung des Ausmaßes der Mitbeteiligung der einzelnen insulinantagonistischen Hormone an der Ausbildung der diabetischen Hyperglykämie in ihrer besonderen Beziehung zu dem von den A-Zellen gebildeten Glucagon kann erst nach Vorliegen weiterer Untersuchungen erfolgen. In späteren Versuchen sollen die Beziehungen des A-Zellsystems zu anderen Hormonen, besonders zum STH, mit Hilfe der chemischen Ausschaltung beider Zellarten der Inseln untersucht sowie weitere stoffwechselphysiologische Experimente an diesen Tieren durchgeführt werden.

Zusammenfassung.

1. Nach einer oralen Vorbehandlung mit p-Aminobenzolsulfonamidisopropylthiodiazol (IPTD) kommt es am Kaninchen nicht zur Entwicklung der typischen Verlaufsform des Alloxandiabetes, insbesondere tritt keine Endhyperglykämie ein. An den Langerhansschen Inseln findet sich dabei neben dem durch das Alloxan verursachten Verlust der B-Zellen eine starke Reduktion bzw. ein vollständiges Fehlen der A-Zellen. Hat die IPTD-Vorbehandlung nur zu einer unerheblichen Verminderung der A-Zellen geführt, bildet sich nach Alloxan die typische Verlaufsform des Alloxandiabetes aus.

2. Die Hyperglykämie alloxandiabetischer Kaninchen kann sowohl durch IPTD als auch durch Synthalin A normalisiert werden. An den Langerhansschen Inseln lassen sich neben den durch das Alloxan verursachten Schädigungen an den B-Zellen zahlreiche A-Zelluntergänge nachweisen. In Extremfällen resultiert der Zustand eines völligen Inselverlustes.

3. Die Hyperglykämie alloxandiabetischer Ratten wird in den meisten Fällen durch Synthalin A innerhalb weniger Stunden normalisiert. Bis auf alimentär bedingte Blutzucker-Schwankungen bildet sich in dem untersuchten Zeitraum (1—19 Tage) ein normoglykämisches Niveau aus. Der Glucosetoleranztest läßt aber eine schwere Regulationsstörung noch erkennen. Die histologische Kontrolle des Pankreas ergibt eine weitgehende Reduktion der A-Zellhaufen, die bis zum vollständigen Verlust gehen kann.

Literatur.

[1] Abelin, I.: Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. **6**, 43 (1950). — [2] Allan, F. N., D. J. Bowie, J. J. R. McLeod and W. L. Robinson: Brit. J. Exper. Path. **5**, 75 (1924). — [3] Bahner, F., u. S. Hornstein-Haraszti: Z. exper. Med. **119**, 23 (1952). — [4] Bastenie, P. A., K. Kowalewski et S. Rutman: Acta gastro-enterol. belg. **11**, 369 (1948). — [5] Biltz, H., u. M. Heyn: Ann. **413**, 60 (1917). — [6] Bouchaert, I. P., and C. de Duve: Physiologic. Rev. **27**, 39 (1949). — [7] Candela, J. L. R.: J. Clin. Endocrin. **12**, 245 (1952). — [8] Chaikoff, J. L., and C. Entenman: Adv. Enzymol. **8**, 171 (1948). — [9] Dragstedt, L. R., J. S. Clarke, G. R. Rogers and P. V. Harper: Amer. J. Physiol. **177**, 95 (1954). — [10] Dunn, J. S., H. L. Sheehan and N. G. B. McLetchie: Lancet I, **1943**, 484. — [11] Feller, D. D., J. L. Chaikoff, E. H. Strisower and G. L. Searle: J. of Biol. Chem. **188**, 865 (1951). — [12] Feller, D. D., E. H. Strisower and J. L. Chaikoff: J. of Biol. Chem. **187**, 571 (1950). — [13] Ferner, H.: Amer. J. Digest. Dis. **20**, 301 (1953). — [14] Fodden, J. H.: Amer. J. Clin. Path. **23**, 994 (1953). — [15] Frank, H., u. E. Kirberger: Biochem. Z. **320**, 359 (1949/50). — [16] Goldner, M. G., and G. Gomori: Endocrinology **35**, 241 (1944). — [17] Goldner, M. G., and G. Gomori: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **65**, 18 (1947). — [18] Gomori, G.: In H. Ferner, Das Inselsystem des Pankreas. G. Thieme 1952. — [19] Hagedorn, H. C., u. B. N. Jensen: Biochem. Z. **135**, 46 (1923); **137**, 92 (1923). — [20] Holt, C. v., L. v. Holt, B. Kröner u. J. Kühnau: Naturwissenschaften **41**, 166 (1954). — [21] Holt, C. v., L. v. Holt, B. Kröner u. J. Kühnau: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 66 (1954). — [22] Houssay, B. A.: New England J. Med. **214**, 961, 971 (1936). — [23] Houssay, B. A., R. F. Brignone y. P. Mazocco: Rev. Soc. argent. biol. **22**, 195 (1946). — [24] Houssay, B. A., y. P. Mazocco: Rev. Soc. argent. Biol. **22**, 367 (1946). — [25] Lazarus, S. S., and B. W. Volk: Metabolism **2**, 500 (1953). — [26] Morita, Y., and J. M. Orten: Amer. J. Physiol. **161**, 545 (1950). — [27] Mering, J. v., u. O. Minkowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **26**, 371 (1889). — [28] Minkowski, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **31**, 85 (1893). — [29] Mirsky, J. A., P. Futterman, J. Wachman and G. Perisutti: Endocrinology (Springfield, Ill.) **49**, 73 (1951). — [30] Pincus, I. J.: J. Clin. Endocrin. **10**, 556 (1950). — [31] Roche, J., et C. Dumazert: C. r. Soc. Biol. (Paris) **120**, 1225 (1935). — [32] Sherlock, S., A. G. Bearn and B. Billing: Trans. 10. Conf. Josiah Macy Jr. Foundation, 205 (1951). — [33] Soskin, S., and R. Levine: Carbohydrate Metabolism, Chicago 1952. — [34] Sutherland, E. W.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 693 (1951). — [35] Sutherland, E. W.: In Phosphorus Metabolism I Baltimore, The John Hopkins Press 1951. — [36] Sutherland, E. W., and C. F. Cori: J. of Biol. Chem. **188**, 531 (1951). — [37] Sutherland, E. W., C. F. Cori, R. Haynes and N. S. Olsen: J. of Biol. Chem. **180**, 825 (1949). — [38] Sutherland, E. W., and C. de Duve: J. of Biol. Chem. **175**, 663 (1948). — [39] Thorogood, E., and B. Zimmerman: Endocrinology (Springfield, Ill.) **37**, 191 (1945). — [40] Weber, H.: Nature (Lond.) **158**, 627 (1946). — [41] Woerner, C. A.: Proc. Amer. Diab. Assoc. **10**, 180 (1950).

Dr. C. v. Holt, Physiol.-chem. Institut der Universität Hamburg.

Aufnahmebedingungen.

I. Sachliche Anforderungen.

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.
2. Der Inhalt der Arbeit darf nicht — sei es auch nur zum Teil oder in anderer sprachlicher Fassung — bereits bei einer anderen Zeitschrift zur Veröffentlichung gelangt oder eingereicht sein.
3. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen.

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern anzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zwecks Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.
2. Die Arbeiten müssen *kurz* und sprachlich gut geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.
3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.
4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen, dagegen können besondere Inhaltsverzeichnisse für einzelne Arbeiten nicht abgedruckt werden.
5. Von jeder Versuchsart bzw. jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll (Krankengeschichten, Aktionsbericht, Versuch) im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. (Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.)
6. Die *Abbildungen* sind auf das wirklich *unbedingt Notwendige* zu beschränken. Kurven, Diagramme usw., die nur zur Illustration von Befunden dienen, die ohne weiteres im Text beschrieben werden können, werden zurückgewiesen. Besonders gilt dies von Rußkurven, die nur angebracht werden, wenn damit ganz außergewöhnliche, neue Befunde belegt werden. Kurze, aber erschöpfende Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Für jede Versuchsart, jede Krankenbeschreibung, jedes Präparat ist nur ein gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle und Kurve. Didaktische Gesichtspunkte bleiben bei der Entscheidung über die Aufnahme einer Abbildung außer Betracht, da das Archiv nicht von Anfängern gelesen wird.
   a) Für Halbtonbilder (Photos, Rußkurven) sind reproduktionsfähige, d. h. scharfe, gut durchgezeichnete Vorlagen (Hochglanzabzüge!) einzureichen.
   b) Für Kurven und Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzung reproduziert werden sollen, sind saubere, klare, mit tiefschwarzer Tusche auf weißes Zeichen- oder Transparentpapier gezeichnete Vorlagen abzuliefern, die nicht mehr umgezeichnet zu werden brauchen. Ist eine Beschriftung vorgesehen, so ist sie ebenfalls reproduktionsfähig in klarer, sauberer Blockschrift einzutragen. Ist der Autor dazu nicht in der Lage, wird um Angabe des Beschriftungstextes in Bleistift gebeten. Bei der Beschriftung durch den Autor ist zu beachten, daß die Höhe der Großbuchstaben und Zahlen in der reproduzierten Abbildung 2 mm betragen soll. Ist also eine lineare Verkleinerung der Strichzeichnung auf $^1/_3$ vorgesehen, so müßten die Buchstaben 4 mm groß gezeichnet werden.
7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel in der Abkürzung nach den Periodica medica, Band-, Seiten- und Jahreszahl (Wochenschriften nur Jahres- und Seitenzahl). Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen alphabetisch anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.
8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.
9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um den Anschein größerer Kürze zu erwecken, ist unzulässig.
10. Bei Anführungen von Handelspräparaten soll stets neben der Markenbezeichnung die chemische Zusammensetzung angegeben werden.
11. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.
12. Festschriften, Habilitationsschriften und Monographien gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Soeben erschien:

Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie. Auf Grundlage des Ribbertschen Lehrbuches seit der zwölften Auflage bearbeitet von Dr. **H. Hamperl**, o. ö. Professor, Direktor des Pathologischen Institutes der Universität Bonn. Zwanzigste und einundzwanzigste Auflage. Mit 686 Abbildungen. XII, 773 Seiten Gr.-8°. 1954. Ganzleinen DM 58.—

Inhaltsübersicht: Einleitung. — Erster Teil: **Allgemeine Ätiologie.** Unbelebte äußere Krankheitsursachen. Belebte äußere Krankheitsursachen (Parasiten). Innere Krankheitsbedingungen (bzw. Ursachen). — Zweiter Teil: **Allgemeine pathologische Anatomie.** Störungen der Entwicklung (Mißbildungen). Örtliche Störungen des Kreislaufs. Krankhafte Veränderungen der Zellen und Gewebe. Die Wiederherstellung der geschädigten Gewebe. Die Heilung der Krankheiten. Die Entzündung. Infektionserreger, Infektionskrankheiten, Granulome. Geschwülste (Allgemeines). Arten der Geschwülste. — Dritter Teil: **Spezielle pathologische Anatomie.** Kreislauforgane. Blut und blutbildende Gewebe. Drüsen mit innerer Sekretion. Nervensystem. Verdauungsorgane. Atmungsorgane. Harnorgane. Männliche Geschlechtsorgane. Weibliche Geschlechtsorgane. Bewegungsorgane. Haut und Hautdrüsen. — Literatur- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Im Frühjahr 1955 erscheint:

Atlas der klinischen Hämatologie und Cytologie

in deutscher, englischer, französischer und spanischer Sprache.

von

Ludwig Heilmeyer und **Herbert Begemann**

Dr. med., o. ö. Professor der inneren Medizin, Direktor der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.

Dr. med., Dozent für innere Medizin, Leiter des Hämatologischen Laboratoriums der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.

mit Beiträgen von

W. Langreder und **W. Mohr**

Dozent Dr. med., Oberarzt an der Universitäts-Frauenklinik, Mainz.

Professor Dr. med., Chefarzt der Klinik des Bernhard Nocht-Institutes für Schiffs- und Tropenkrankheiten Hamburg.

In zwei Bänden:

Textband: Mit 10 Textabbildungen. Etwa 424 Seiten 4°. 1955.
Bildband: Mit 261 farbigen Tafeln, gezeichnet von Hans und Thea Dettelbacher, Freiburg i. Br. Etwa 360 Seiten 4°. 1955.

Bei Vorausbestellung bis zum Erscheinen Ganzleinen DM 156.—
Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen Ganzleinen DM 195.—

Inhaltsübersicht: **A. Technische Einleitung.** I. Punktionstechnik. — II. Färbeverfahren. — III. Untersuchung auf Wurmeier und Amöben. — **B. Bildteil:** I. Blut und Knochenmark. 1. Einzelzellen. 2. Krankheitsbilder. Die hämolytischen Anämien. Die megaloblastischen Anämien. Die Polycythämie. Die Erythroblastosen des Erwachsenen. Die chronische Erythroblastose (Typ Heilmeyer-Schöner). Die akute Erythrämie (Typ di Guglielmo). Die reaktiven Knochenmarksveränderungen. Die infektiöse Mononucleose. Die chronisch myeloische Leukämie. Chronisch lymphatische Leukämie. Knochenmark eines Kranken mit Makroglobulinämie. Chronisch myeloische Leukämie mit Myeloblastenschub, Knochenmark. Die unreifzelligen Leukosen (akute Leukämien) und die akuten Erythroleukämien. Die Knochenmarksaplasie. Die Thrombopenien und -pathien. Das Myelom (Plasmocytom). Morbus Gaucher, Knochenmarksausstriche. Lupus erythematodes-Zellen, Knochenmark. — II. Milz und Lymphknotenpunktate. — III. Die Cytologie der Leberpunktate. — IV. Sonstige Organpunktate. — V. Tumorpunktate. — VI. Die Cytologie von Magensaft, Sputum, Ascites und Pleurapunktaten. — VII. Zur Cytologie der Vagina. — VIII. Anhang: Blutparasiten. Wichtigste Erreger von Tropenkrankheiten und Wurmeier.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegt ein Prospekt des Springer-Verlages Berlin · Göttingen · Heidelberg, bei.

Verantwortlich für den Anzeigenteil: Günter Holtz, Berlin W 35, Reichpietschufer 20. — Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck: Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH — Printed in Germany.